

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. H. Kewitz

**Die Aktivität des
Arzneimittelstoffwechsels bei Leberzirrhose:
Hochdruckflüssigkeits-chromatographische
Untersuchung des Metabolismus
von Amidopyrin**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Wolfgang Raack
Schwelm

1903





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546605_0004

Meinen Eltern

gewidmet

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. H. Kewitz

Die Aktivität des Arzneimittelstoffwechsels bei Leberzirrhose:
Hochdruckflüssigkeits - chromatographische Untersuchung des
Metabolismus von Amidopyrin

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Wolfgang Raack
Schwelm

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Ivar Roots

Korreferent: Prof. Dr. F. v. Bruchhausen

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13.4.83

I.	Einleitung und Fragestellung	1
II.	Material und Methoden	7
	A. Auswahl des Kollektivs	7
	B. Versuchsaufbau	7
	C. Nachweismethoden	11
	1. Vorbemerkungen zur Amidopyrin-Messung im Plasma	11
	2. Gaschromatographische Bestimmung von Amido- pyrin im Plasma	11
	3. Entwicklung einer HPLC - Methode zur Trennung von Amidopyrin und Metaboliten	12
	4. HPLC - Messung von Amidopyrin und Metaboliten	16
	5. Reagentien	16
	6. Extraktionsverfahren	16
	a) Urin-Proben	16
	b) Urin-Eichreihe	18
	c) Plasma-Proben	18
	d) Plasma-Eichreihe	18
	7. Messvorgang	18
	8. Verfahrenskontrolle	22
	9. Chromatogramm - Beispiele	23
	10. Auswertung der Urin - Messung	33
	11. Auswertung der Plasma - Messung	33
	12. Statistische Auswertung	35
III.	Ergebnisse	36
	A. Plasmakonzentrationen von Amidopyrin und Metaboliten	36
	B. Urinkonzentrationen von Amidopyrin und Metaboliten	45
	C. Korrelation der Plasma- und Urin-Ergebnisse	55

	Seite
D. Patienten mit und ohne Spironolacton - Vorbehandlung	55
E. Ergebnisse der klinischen Labordaten	57
IV. Diskussion	62
A. der Methode	62
B. der Urinmessungen	66
C. der Plasmamessungen	73
D. Einfluss von Spironolacton auf die Amidopyrin - Kinetik	77
E. Amidopyrin - Stoffwechsel und Leberzirrhose	77
V. Zusammenfassung	83
VI. Literaturverzeichnis	85

I.

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Für Galen (130-200 n. Chr.) war die Leber Sitz des "pneuma physicon", Kardinalorgan der vegetativen Sphäre und der ernährenden Kräfte (50). Modernere Definitionen sind zwar präziser, aber auch weniger poetisch. Sie beschreiben die Leber als Zentralorgan des Stoffwechsels. Ihre Funktionen betreffen die Entgiftung toxischer Stoffwechselprodukte und körperfremder Stoffe, wie etwa Arzneimittel, die Speicherung von Glykogen und Vitaminen, die Synthese von Proteinen, Cholesterin, Gallensäure etc.

Diese von der Leber aufrechterhaltene Homöostase gerät im Falle des zirrhotischen Umbaus des Organs ins Wanken. Niedriges Serum-Albumin und Blutungsneigung zeigen die verminderte Syntheseleistung an, Hyperbilirubinämie die gestörte Ausscheidungsfunktion und erhöhte Ammoniakspiegel können als Zeichen der Entgiftungsstörung auftreten.

Dass auch der Arzneistoffwechsel bei Leberzirrhose beeinträchtigt ist, wurde zunächst von einigen Autoren bestritten (10, 47, 50, 72). Mittlerweile ist aber ein verminderter Metabolismus für viele Pharmaka nachgewiesen (29, 50, 72, 76).

Die Diagnostik der Leberzirrhose musste sich bisher mit der Beschreibung morphologischer Kriterien (53) und der Interpretation der Serum-Laborchemie begnügen (77). Nur wenige funktionelle Untersuchungsverfahren stehen zur Verfügung (47). Die Überlegung liegt nahe, den Metabolismus von Arzneimitteln als aktive Stoffwechselleistung der Leber diagnostisch zu verwerten (71, 77).

Als Modellsubstanz für den Arzneimittelstoffwechsel wurde in den letzten Jahren vielfach das Pyrazolonderivat Amidopyrin (1-Phenyl-2, 3-dimethyl-4, dimethyl-amino-pyrazolon-(5)) verwendet (34). Mehrere pharmakologische Eigenschaften sprechen für die Eignung von Amidopyrin (AP):

Es wird enteral schnell und vollständig resorbiert (76) und in der Leber in hohem Masse verstoffwechselt (19, 65). Leberdurchblutung und niedrige Plasmaeiweiss-



bindung (70, 71) limitieren kaum seinen Abbau; ein enterohepatischer Kreislauf findet nicht statt (37). Selbst im Stadium der Niereninsuffizienz ist die Elimination wenig beeinflusst (65).

Das schon 1893 vom Chemiker Friedrich Stolz synthetisierte AP (14, 15) wurde seit 1897 als potentes Analgetikum und Antipyretikum fast 70 Jahre verwendet. Heute ist seine therapeutische Nutzung in den Hintergrund getreten.

AP wird im endoplasmatischen Retikulum der Leberzelle verstoffwechselt. Diese als Mikrosomenfraktion gewonnene Zellorganelle beherbergt die Enzymsysteme für den oxydativen Abbau vieler Arzneimittel (60). Neben der Kopplung mit hydrophilen Gruppen sind oxydative Reaktionen wichtigste Mechanismen der Inaktivierung und Voraussetzung für die Eliminierung von Arzneimitteln (17, 23).

Neben Arzneimitteln werden in den Mikrosomen auch Steroide, Fettsäuren, polycyclische Karzinogene u. a. Stoffe einer oxydativen Umwandlung unterzogen (16, 39, 59). Mehr als 240 Substrate dieses unspezifischen Enzymsystems (60) sind bekannt (18, 19). Die Lipidlöslichkeit der Substrate ist von hoher Bedeutung (29, 59).

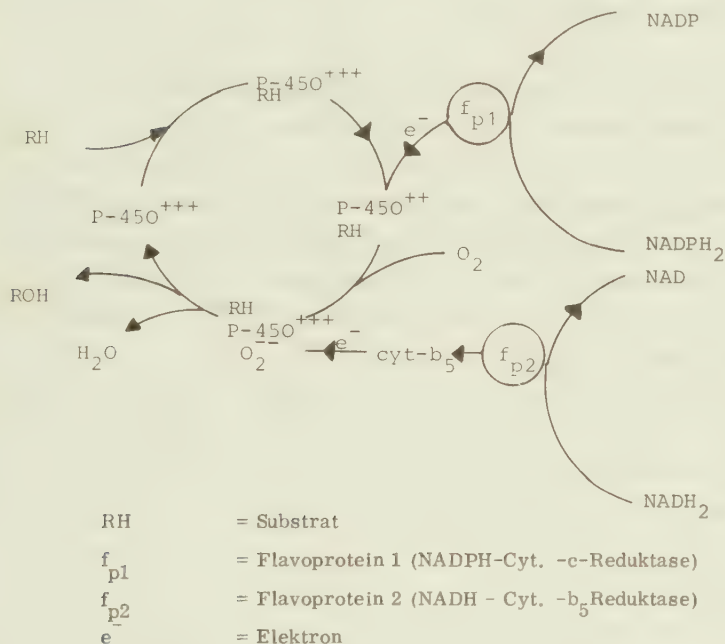
Mediator der oxydativen Umwandlung ist ein Hämoprotein mit Namen Cytochrom P-450.

Schematisch lässt sich der Reaktionsablauf von Cytochrom P-450 so darstellen:



Ein Atom von molekularem Sauerstoff wird auf das Substrat R übertragen, während das andere unter Verbrauch von reduzierten Pyridin-Nukleotiden zu Wasser reduziert wird (52, 59). Dieser besondere Reaktionsablauf begründet auch die Bezeichnung als mischfunktionelle Oxydasen. Ausser Cytochrom P-450 sind an diesem Vorgang mindestens ein weiteres Hämoprotein, das Cytochrom b_5 , und zwei Flavoproteine beteiligt: zum einen die NADPH-abhängige Cytochrom-c-Reduktase, zum anderen die NADH-abhängige Cytochrom- b_5 -Reduktase (16, 17).

Diese Enzymsysteme sind isoliert, gereinigt und in vielen ihrer Eigenschaften charakterisiert worden (17). Dennoch bleiben viele Fragen offen, und bezüglich des tatsächlichen Ablaufs der mikrosomalen Oxydation darf das folgende Schema nur als Modell gelten (16, 17, 19):



Der Stoffwechsel eines Arzneimittels unterliegt grösseren interindividuellen Schwankungen (13). Sie sind z. B. begründet durch:

- (1) verschiedene genetische Determinierung (22, 69)
- (2) Beeinflussung durch Umweltfaktoren, u.a. Ernährung, Alkohol- und Zigarettenkonsum (23, 60, 69, 73)
- (3) durch Alter und Geschlecht (56)
- (4) durch Hemmung und Induktion der abbauenden Enzymsysteme (22, 60)

So kann die Halbwertszeit von Amidopyrin durch vorherige Gabe von Phenobarbital oder Rifampicin verkürzt werden (29, 40). Eine Zunahme des Leberzellgehaltes an Cytochrom P-450 ist hier nachgewiesen (22). Ebenso kann in vitro der Abbau von AP z. B. durch Metyrapon gehemmt werden (38) und in vivo wird die AP-Clearance z. B. durch Disulfiram verkleinert (35).

Amidopyrin wird in den Mikrosomen als Substrat von Cytochrom P-450 in zwei oxydativen Demethylierungsschritten zu Monomethylaminoantipyrin (MM) und weiter zu Aminoantipyrin (AAP) abgebaut (s. Abb. 1) (22, 25). Aminoantipyrin seinerseits wird ausserhalb der Mikrosomen zu Acetylaminoantipyrin (AcAAP) acetyliert (28). Neben diesen drei seit längerer Zeit bekannten Metaboliten (27) ist seit kurzem ein weiterer Metabolit nachgewiesen worden, das N-Formylaminoantipyrin (N-FAAP) (24, 43). Es wird auf der Stufe von Monomethylaminoantipyrin durch Oxydation der N-Methyl-Seitenkette gebildet (54).

Alle vier Metabolite lassen sich neben kleinen Mengen von unverändertem Amidopyrin mit Hilfe der Massenspektrometrie im Urin nachweisen (25). In geringem Umfang finden sich auch noch andere Metabolite, so die den Urin rot färbende Rubazonsäure sowie Methylrubazonsäure und 4-OH-Antipyrin (27).

Fragestellung:

Im Stadium des zirrhotischen Umbaus der Leber ist eine verminderte Elimination von AP bereits nachgewiesen worden (2, 6, 76).

Jedoch ergeben sich noch folgende Probleme:

1. Es sollte eine routinemässig anwendbare Methode zum Nachweis von Amidopyrin und seinen wichtigsten Metaboliten im Serum und Urin etabliert werden.
2. Welche pharmakokinetischen Parameter von Amidopyrin werden durch die Zirrhose beeinflusst ?
3. Ändert sich das Metabolisierungsmuster im Vergleich zu vorliegenden Daten Gesunder ?

4. Anhand welcher Messanordnung lässt sich am günstigsten eine Quantifizierung der Arzneimittelstoffwechselkapazität der Leber erzielen ?
Lässt sich der ^{14}C -Amidopyrin-Atemtest durch einen nicht-radioaktiven Versuchsaufbau ersetzen ?
5. Ergeben sich weitere Anhalte, dass die Aktivität des endoplasmatischen Retikulums der Leberzelle, wie sie durch den Amidopyrin-Test beschrieben wird, ein klinisch anwendbarer Parameter für die Leberfunktion darstellt ?

Um zur Klärung dieser Fragen beizutragen, wird in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe einer neu entwickelten Hochdruckflüssigkeitschromatographischen Methode der Stoffwechsel von AP bei Patienten mit Leberzirrhose untersucht.

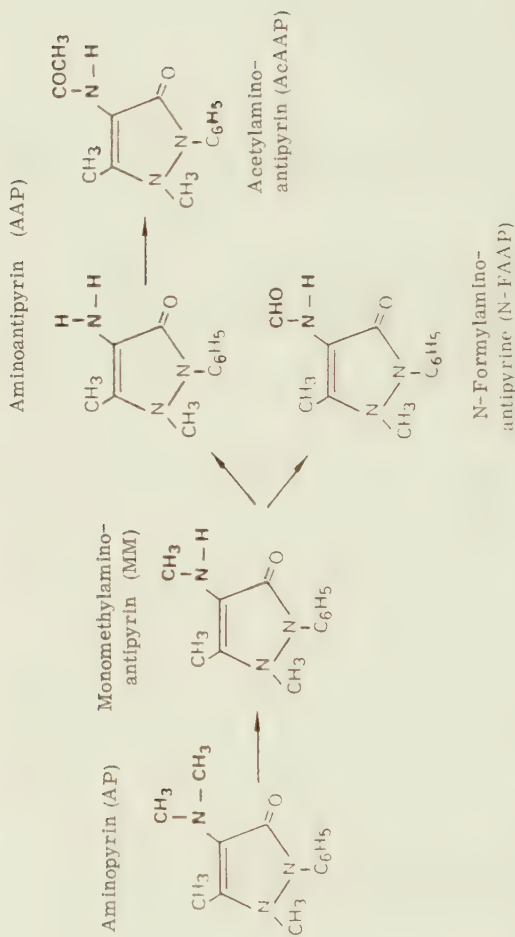


Abb. 1: Die Stoffwechselung von AP zu MM, AAP, AcAAP und N-FAAP

II. MATERIAL UND METHODEN

II. A. Auswahl des Kollektivs

Untersucht wurden stationär behandelte Leberzirrhotiker. Die Auswahl erfolgte zufällig nach der Reihenfolge der Verfügbarkeit der Patienten. Es wurden Leberzirrhotiker mit laparoskopisch gesicherter Leberzirrhose, kompensiert oder dekompenziert, unabhängig vom Geschlecht, von Begleitkrankheiten und bis zu einem Alter von 65 Jahren in das Kollektiv aufgenommen. Bedingung war ein ausreichender Allgemeinzustand und gute Einsichtsfähigkeit. Die Medikation beschränkte sich auf die klinisch notwendigen Verordnungen, die während des Versuchs nicht geändert wurden. Bezüglich der Spironolactontherapie bestand die Bedingung: mindestens seit zwei Wochen Spironolactontherapie bzw. mindestens seit zwei Wochen abgesetzt.

Die Patienten wurden soweit wie möglich in ihrem üblichen Tagesablauf nicht behindert; sie bekamen die übliche Krankenhauskost.

II. B. Versuchsaufbau

15 Patienten erklärten sich nach gründlicher Aufklärung über den Sinn der Untersuchung und mögliche Nebenwirkungen bereit, an dem Versuch teilzunehmen. Es waren 10 Männer und 5 Frauen im Alter von 31 bis 65 Jahre. In 9 Fällen konnte eine Alkoholanamnese erhoben werden, bei 4 Patienten war eine frühere Hepatitis bekannt, wobei sich in einem Fall ein zeitlicher Zusammenhang zwischen einer langen INH-Therapie wegen Tbc und dem Auftreten einer chronisch-aggressiven Hepatitis herstellen liess. Bei 3 Patienten gab es keine anamnestischen Angaben zur Ursache der Zirrhose. Tab. A gibt eine Übersicht über die wichtigsten anamnestischen Daten. Die Befunde wurden ergänzt durch die Erhebung von Laborwerten, nämlich Na, K, GOT, GPT, γ -GT, PTT, Quick, alkalische Phosphatase, Bilirubin, gesamt und direkt, Kreatinin, Harnsäure, Triglyceride, Cholesterin,

Patienten	Alter (a) Geschl.	Körpergew. (kg)	Größe (cm)	Diagnose	Ursache: Alkohol = A Hepatitis = H	Begleit- symptome	Begleit- erkrankung	Spironolac- ton-Medika- tion	andere Medikamente
H.K.	66m	88	167	komp.mittel- grob-knotige L.z.	A	Dyspnoe, Nasen- bluten, Palmar- erythem	Diab. mell.	0	keine
G.J.	50m	74	181	dekomp.L.z. im dystroph. Schub m.port.Hypert.	A	Icterus, Spider-n. n., Palmarery- them, Ascites	chron. Bronch.	400 mg	3 Ebl, Bifiteral
H.H.	57w	62	165	dekomp.L.z. im dystroph. Schub m.port.Hypert.	H	Icterus, Spider-n. n., Palmarerythem Oesoph. varizen	-	400 mg	3 Ebl, Bifiteral, 40mg La- slix, 1000mg Distranaurin
E.B.	64w	56	172	dekomp.feinkn. L.z. m.port. Hypertension	H	Dyspnoe, Oedeme, Ascites	-	400 mg	3 Ebl, Bifiteral, 1Drg. Ko- naktion, 0,3mg Novodigal, 5mg Saltucin
D.S.	50m	72	178	dekomp.aktive Fettz.m.port. Hypertension	A	Sklerenicterus, Palmarerythem, Ascites, Spider n.	Diab. mell.	200 mg	20 Tr. Konaktion, 20 Tr. Plan- tival
H.G.	53m	60	165	dekomp.L.z. m. port.Hyperten- sion	A	Dyspnoe, Spider-n. naevi, Ascites	-	400 mg	0,3mg Novodigal, 5mg Sal- tucin, 30mg Dalmadorm, Nastivinetten
G.P.	53w	64	158	dekomp.Fettz. im akuten Schub m.port.Hypert.	A	Palmarerythem, Spider-naevi, Ascites	Diab. mell.	400 mg	5mg Valium, 60 tr. Bisolvon, 80mg Lasix, 3g Neomycin, Insulin
F.W.	55m	77	177	kompensierte Leberzirrhose m.port.Hypert.	-	keine	Diab. mell.	200 mg	50mg Glutril
A.J.	65w	69	168	dekomp.klein- mittelgroßknot. L.z. m.port.H.	-	Oesophagusva- rizen	-	300 mg	5 Ebl, Gelustil lac, 5 Tr. Ko- naktion, 0,3mg Novodigal, 5mg Saltucin, 12 Kap. Humatin

G.C.	31m	70	180	dekomp.alkohol- tox.feinknot. L.z. m.port.H.	A	Icterus, Ascites	-	200 mg	1000mg Tagamet, 100mg Resoferix, 10mg Kona- kion
J.M.	36m	76	176	dekomp.post- nekrotische L.z. fein-grobhöck.	A+B	Oesophagus- varizem, Ascit- es	-	0	4 EBl. Gelusil lac, 15 Tr. Konaktion
C.B.	38m	50	176	dekomp. Klein- mittelknot. L.z. m.port. Hypert.	A	Oesophagusva- rizen	eros. Gastr.	0	1000mg Tagamet, 5 EBl. Gelusil lac
X.B.	51m	88	180	komp. Klein- knotige Leber- zirrhose	+	keine	Diab. meil.	0	15 Tr. Konaktion, Insulin
A.D.	65w	59	160	dekomp. mittel- knot. L.z. mit port. Hypert.	-	Splenomegalie, Ascites, Oeso- phagusvarizen	-	0	0,3mg Novodigal, 100mg Resoferix
Z.T.	39m	64	168	dekomp. alkohol- tox. L.z. mit port. Hypert.	A	Thrombopenie	-	0	3 Drg. Vitamin B-Komp.

+ früher jahrelange INH-Medikation wegen Harnwegs-Tbc

Tab. A : Patientenkollektiv von 15 stationär behandelten Leberzirrhosekern

Gesamt-Eiweiss, Serum-Elektrophorese, GLDH, wobei die Werte nicht älter als eine Woche sein durften.

Bei einigen Patienten wurde ferner die Cholinesterase bestimmt.

Bei Patient H. K. und E. B. war die Urinsammlung nicht vollständig, so dass nur Plasmaparameter ausgewertet werden konnten. Bei Pat. G. C. konnten keine AP-Plasmaparameter gewonnen werden (s. dort).

Die Versuchsdauer betrug vier Tage:

- 1. Tag: 24 h - Sammelurin
- 2. Tag: 24 h - Sammelurin
- 3. Tag: AP oral, 5 Blutabnahmen (alle 2 Stunden)
2 x 12 h Sammelurin
- 4. Tag: 24 h - Sammelurin

Am 1. und 2. Tag wurde der 24 h - Urin des Patienten gesammelt zwecks Erhebung des Leerwertes. Am 3. Tag bekam der Patient morgens Amidopyrin (Merck, Darmstadt) oral in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht. Der Patient war seit mindestens 12 h nüchtern und durfte 2 h nach Einnahme des Medikaments normal weiteressen. In den 10 h nach Verabfolgung des Medikaments wurde 5 mal venös 6-8 ml Blut entnommen.

Urin wurde am 3. Tag in 2 x 12 h - Portionen gesammelt.

Am 4. Tag erfolgte wieder eine 24 h - Urin-Sammlung.

Von den gewonnenen Urinproben wurden innerhalb von 12 h nach Ende der jeweiligen Sammelperiode das Volumen bestimmt und 3 x 100 ml und 2 x 50 ml in Plastikfläschchen bei -25° C konserviert. Die Blutproben wurden am Tage der Untersuchung bei 3000 r./min zentrifugiert und das überstehende Serum in 2 x 2 ml - Mengen in Plastikröhrchen bei -25° C aufbewahrt.

II. C. Nachweismethoden

Im folgenden wird die Entwicklung einer hochdruckflüssigkeitschromatographischen (HPLC) Methode geschildert, die praktikabel und schnell, die gleichzeitige Erfassung von Amidopyrin (AP) und vier seiner Metaboliten - MM, AAP, AcaAP, N-FAAP - aus Körperflüssigkeiten von Patienten gestattet.

II. C. 1. Vorbemerkung zur Amidopyrinmessung im Plasma

Die Plasmakonzentrationen für Amidopyrin (AP) wurden sowohl mit einer gaschromatographischen (GC) Methode wie mit der HPLC-Methode bestimmt. Zum einen sollten die zu bestimmenden AP-Halbwertszeiten und -Clearance-werte durch die Doppelbestimmung in ihrer Präzision verstärkt werden. Zum anderen konnte so ein Vergleich der Leistungsfähigkeit der neuentwickelten HPLC-Methode mit der etablierten GC-Methode (40) gezogen werden.

Die HPLC-Bestimmung von AP wird im Abschnitt " Metabolitenmessung " mit abgehandelt.

II. C. 2. Gaschromatographische Bestimmung von Amidopyrin im Plasma

Die Extraktion der Plasmaproben erfolgt nach dem im Abschnitt " HPLC-Messung/Plasmaproben " beschriebenen Verfahren. Nur wurde hier als interner Standard 50 µg Phenacetin (Merck/Darmstadt) (1 mg/ml) zugesetzt.

Gemessen wurde mit einem HEWLETT PACKARD Gaschromatographen Modell 5830 A mit einem GC-Terminal 18850 A HP und einem Stickstoffsensiblen Flammen-Ionisations-Detektor (N-FID) mit 3 ml/min H_2 -Fluss und 60 ml/min Luftfluss. Die verwendete Glassäule (180 cm x 0,2 cm) war mit 3 % OV-17 auf Varaport 30 gefüllt. Gas-Fluss der Säule war 30 ml/min Helium. Die Injektionsblocktemperatur war 210° C, die Trennung erfolgte

mit einem Temperaturprogramm von 165° C bis 190° C mit einer Steigerungsrate von 2,5° C/min, die Detektortemperatur betrug 300° C. Es erfolgte die quantitative Bestimmung von AP und die qualitative Bestimmung von MM, wie am Chromatogramm von Pat. ZT in Abb. 2 zu sehen ist. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte über eine Eichreihe. Hierzu wurden 5, 10, 15, 20, 25 µg AP und jeweils 50 µg Phenacetin als interner Standard zu 1 ml Plasma einer gesunden Versuchsperson ohne Medikamentenanamnese zugesetzt und wie beschrieben extrahiert. Abb. 3 zeigt ein solches Eichreihenchromatogramm. Die Auswertung erfolgte über Peakflächenberechnung und Verhältnisbildung zur Peakfläche des internen Standards. Die sich ergebenden Relationen werden in einem Koordinatensystem gegen die eingesetzten Konzentrationen aufgetragen, und die sich ergebende Punktfolge charakterisiert eine lineare Funktion, über die diejenigen Konzentrationen abgelesen werden können, die mit einer gemessenen Peakflächenrelation korrespondieren (Abb. 4).

II. C. 3. Entwicklung einer HPLC-Methode zur Trennung von Amicopyrin und Metaboliten

Zunächst wurde der Versuch unternommen, mit der Gaschromatographie die gewünschte Darstellung der 5 zu untersuchenden Substanzen zu erreichen. Als Haupthindernis erwies sich bald die Trennung der Metaboliten AcAAP und N-FAAP. Der Versuch der Trennung auf verschiedenen Trägerstoffen scheiterte. Auch die Rekonstruktion des von Iguchi et al. (43, 44) beschriebenen Verfahrens bezüglich der GC-Trennung blieb unbefriedigend. Die Trennung gelang schliesslich mit der Methode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Verwendet wurde ein 3-Komponenten-Gradient-System: Hexan - Isopropanol - Dichlormethan. Das System brachte eine ausreichende Trennung von AP, MM, AAP, AcAAP, N-FAAP und Acetanilid als interner Standard (Abb. 5).

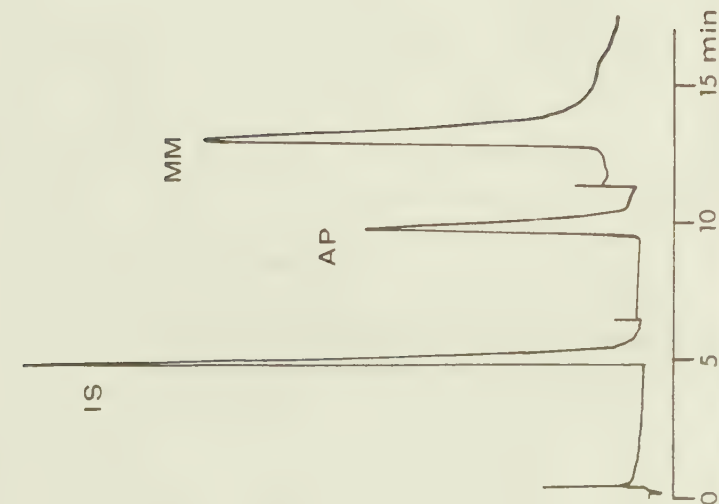


Abb. 2: GC-Chromatogramm einer Plasmaprobe von Pat. Z, T, 6 h nach Gabe von Amidopyrin (AP), Interner Standard (IS) : 50 µg Phenacetin.

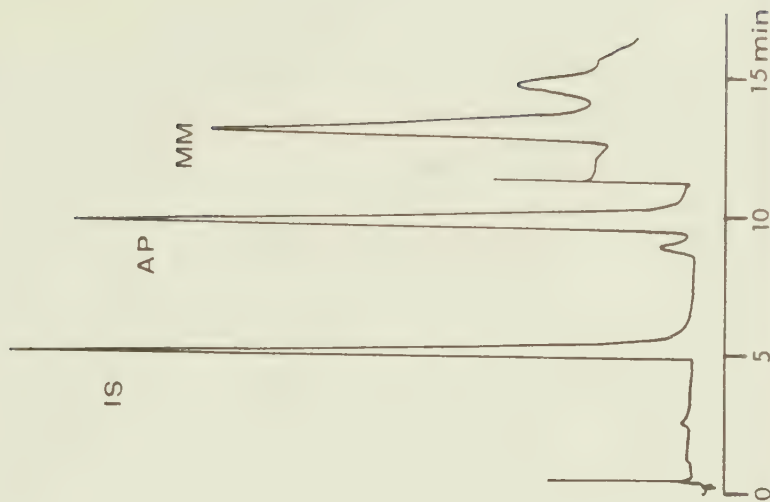


Abb. 3: GC-Chromatogramm einer Eichreihenprobe mit 15 µg Amidopyrin (AP), 15 µg Monomethylaminoantipyrin (MM) und 50 µg Phenacetin als Interner Standard (IS)

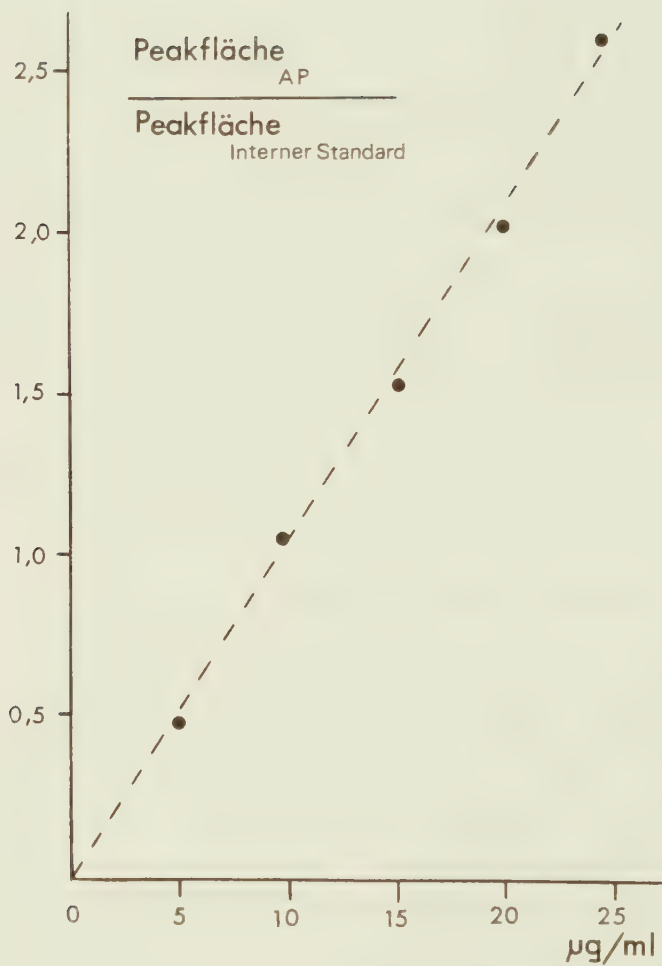


Abb. 4 : Eichreihe zur gas-chromatographischen Bestimmung der Amidopyrin (AP) - Plasmakonzentrationen. Interner Standard : 50 μg Phenacetin

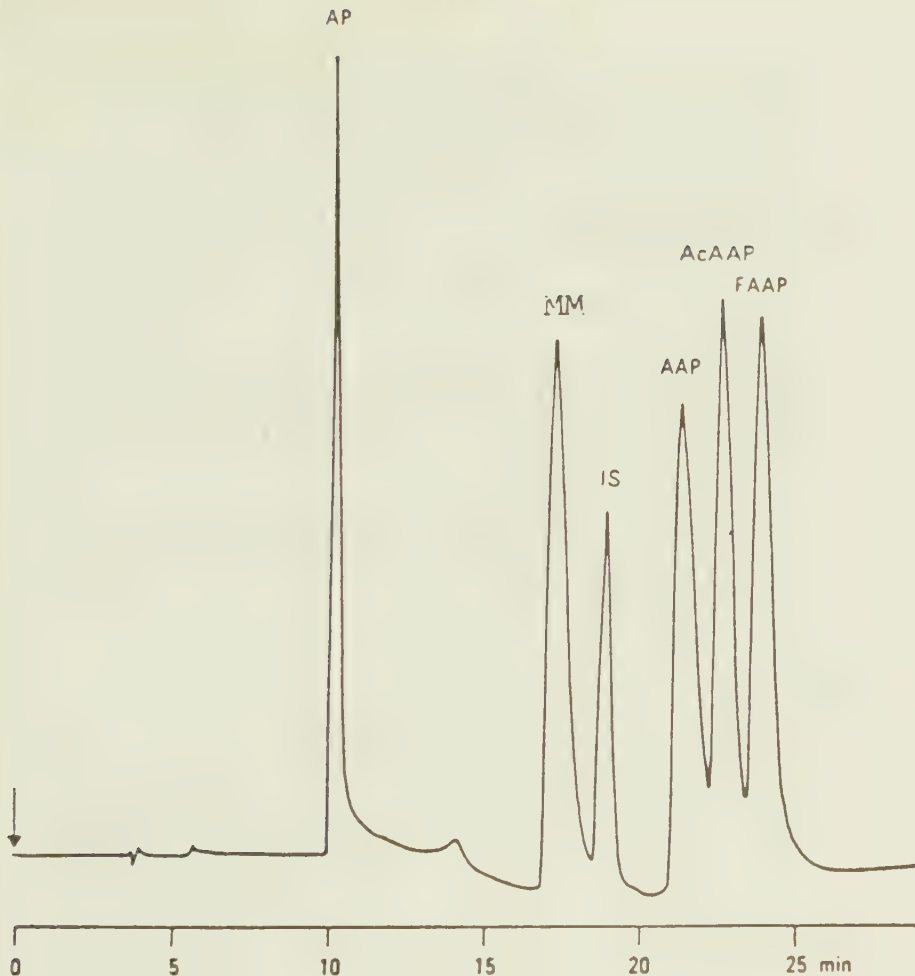


Abb. 5: HPLC - Trennung einer synthetischen Mischung von Amidopyrin (AP), Monomethylaminoantipyrin (MM), Aminoantipyrin (AAP), Acetylaminoantipyrin (ACAAP), N-Formylaminoantipyrin (N-FAAP) und Acetanilid als interner Standard (IS).

II. C. 4. HPLC-Messung von Amidopyrin und Metaboliten

Zur Anwendung kommt ein Hochdruckflüssigkeitschromatograph Modell SP 8000 (Spectra Physics, Santa Clara, Calif.), mit automatischer Einspritzung.

Angeschlossen ist ein Zwei-Kanal-Detektor (280 nm und 254 nm), Modell 230 (Spectra Physics).

Die benutzte Säule ist eine 4,6 mm ID x 25 cm Lichrosorb Diol 10 Säule (Chrompack, Netherlands), die in einem Temperatur-Kontrollblock auf 25° C gehalten wird. Die Säule ist eine "bonded phase" Säule mit vicinalen Hydroxylgruppen als funktionelle Gruppen.

Gemessen wird bei 254 nm, einer Wellenlänge, bei der alle zu messenden Substanzen einen Extinktionskoeffizienten von mehr als 8000 aufweisen.

Die Trennung erfolgt im Gradientenbetrieb.

II. C. 5. Reagentien

AP, AAP, Acetanilid und Phenacetin wurden von Merck Darmstadt bezogen, MM, AcAAP und N-FAAP wurden im Institut für klinische Pharmakologie der Freien Universität Berlin synthetisiert. Die verwendeten Lösungsmittel hatten, wenn nicht anders erwähnt, UV-Reinheitsgrad (Merck Darmstadt).

II. C. 6. Extraktionsverfahren

Die Extraktion folgt im wesentlichen einer von Hildebrandt et al. (40) beschriebenen Methode.

- a) Urin Proben: Nach dem Auftauen der tiefgefrorenen 50 ml-Urinproben wird die gesamte Probe über ein doppeltes Papierfilter filtriert. 50 ml-Reagenzgläser werden mit je 300 µl einer alkoholischen Acetanilidlösung (interner Standard, 100 µg/ml) beschickt, die unter N₂-Strom eingedampft wird.

Extraktion von Amidopyrin und seinen Hauptmetaboliten aus Urin

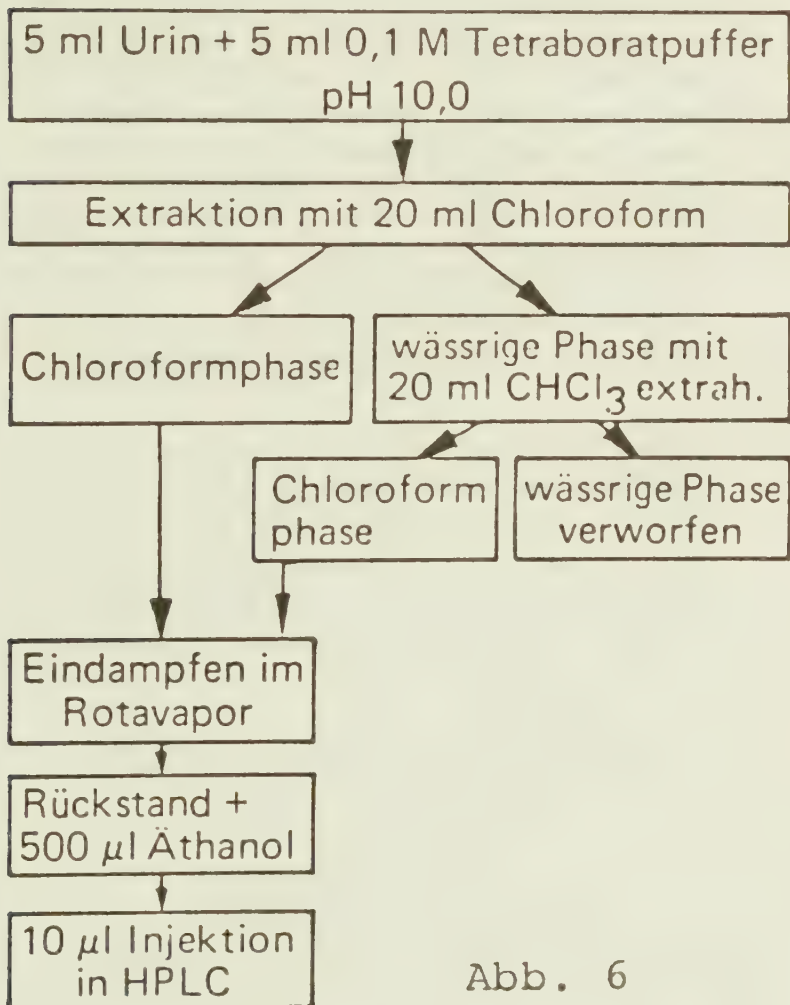


Abb. 6

- Je 5 ml Urin einer Patientenprobe werden hinzugegeben.
Nun werden 5 ml einer 0,1 M Na-Tetraboratlösung pH 10 hinzugefügt.
Mit 4 n KOH-Lösung wird unter pH-Meter-Kontrolle auf pH 10 eingestellt. Zweimal wird mit 20 ml Chloroform p.a. extrahiert (je 10 min schütteln und 3 min bei 3000 r/min zentrifugieren). Die organische Phase wird gesammelt, mit trockenem Na-Sulfat getrocknet und im Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird mit 500 µl Äthanol p.a. aufgenommen. 10 µl davon werden chromatographiert (Abb. 6).
- b) Urin-Eichreihe: Hierzu werden aus einer Stammlösung von 100 µg/ml einer jeden zu messenden Substanz 50, 100, 300, 600, 1000 µl in 50 ml-Reagenzgläser gegeben, eingedampft und mit 5 ml Leerurin versetzt. Es wird in gleicher Weise wie oben extrahiert.
Eine typische Eichreihe zeigt Abb. 7.
- c) Plasma-Proben: 200 µl einer Acetanilidlösung (100 µg/ml interner Standard) werden in 20 ml-Reagenzgläser gegeben und unter N₂ eingedampft. Je 1 ml Plasma wird zugegeben. Mit 1 ml gesättigter NaCl-Lösung wird ausgesalzen. Nach Zugabe von 1 ml 0,1 M Na-Tetraboratpuffer pH 10 wird mit 4 n KOH auf pH 10 wie oben eingestellt.
Mit 2 x 10 ml Chloroform wird wie oben extrahiert. Nach Eindampfen im Rotavapor wird mit 200 µl Äthanol aufgenommen. Davon werden 10 µl chromatographiert.
- d) Plasma-Eichreihe: Die Eichreihe hat hier die Konzentration:
5, 10, 40, 70, 100 nMol/ml pro Substanz (Abb. 8).

II. C. 7. Messvorgang

Eluiert wurde mit einem linearen 3-Komponenten-Gradient-System aus Hexan, Dichlormethan und Isopropanol wie in Abb. 9 beschrieben.
Flussgeschwindigkeit: 0,9 ml/min
Temperatur: 25° C

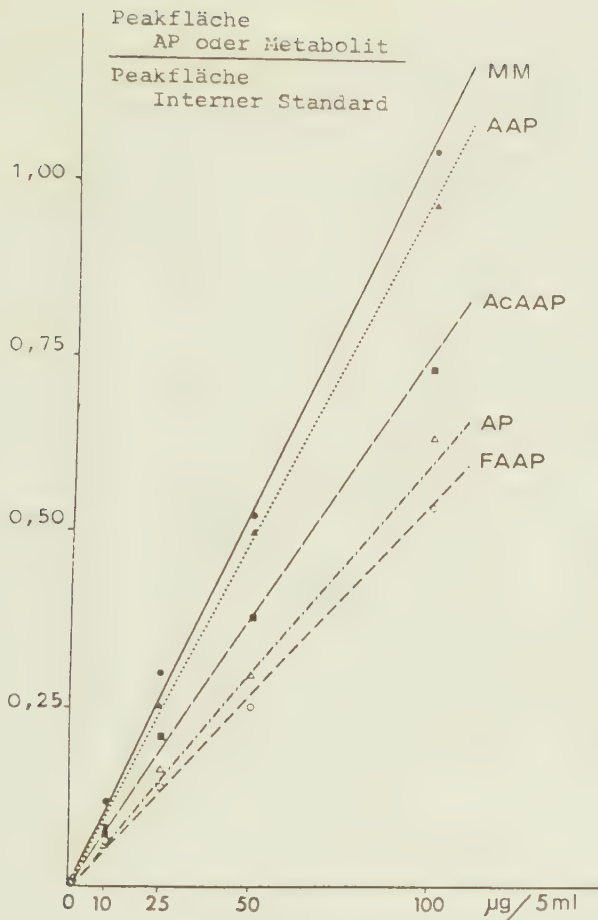


Abb. 7: Eichreihe zur HPLC - Messung der Urin-
konzentrationen von AP, MM, AAP, AcAAP,
sowie N-FAAP. - Interner Standard:
30 μg Acetanilid

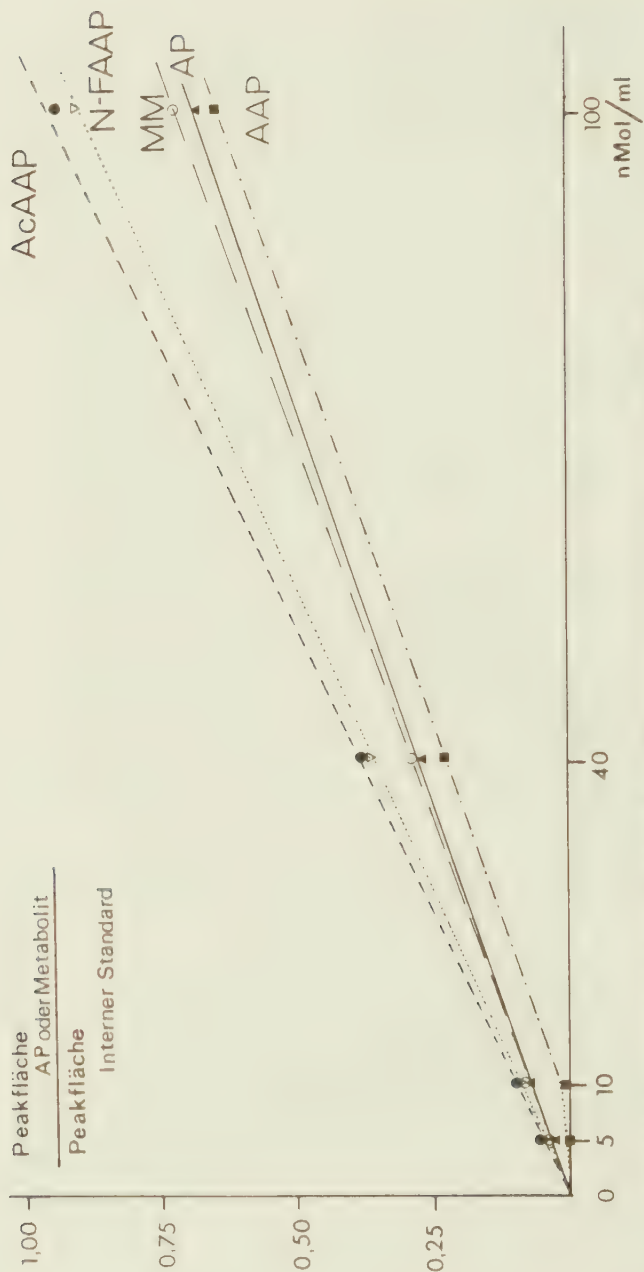


Abb. 8: Eichreihe zur HPLC - Messung der Plasmakonzentrationen von AP, MM, AAP, AcAAP und N-FAAP, - Interner Standard : 20 µg Acetanilid



Zeit	% A	% B	% C
0.0	89.0	1.0	10.0
8.0	60.0	10.0	30.0
15.0	65.0	20.0	15.0
25.0	65.0	20.0	15.0
30.0	0.0	100.0	0.0
(min)			

Abb. 9 : Programm des 3-Komponenten-Gradient-Systems
zur Elution von Amidopyrin und Metaboliten
A = n-Hexan, B = Isopropanol, C = Dichlormethan

Die Detektorsensitivität lag bei 0,16 AUFS (absorbance units at full scale).

Die Auswertung erfolgte durch Peakflächenberechnung nach der Formel:

Peakhöhe x Peakbreite bei halber Höhe.

Errechnet wird die Peakflächenrelation zum internen Standard.

Die Konzentration ergibt sich durch Ablesen von der Eichreihenkurve.

II. C. 8. Verfahrenskontrolle

Die Verlässlichkeit der Methode wurde durch folgende Untersuchungen geprüft:

1. Vergleichende Messung definierter Substanzkonzentrationen, einmal direkt und einmal nach Extraktion (Wiederfindung).
2. Wiederholte Messung der gleichen Probe zur Bestimmung der Konstanz der Retentionszeiten und der Peakhöhen.
3. Wiederholte Extraktion und Messung einer definierten Substanzkonzentration an verschiedenen Tagen.

ad 1.: Für die Konzentrationen 40 nMol/ml und 10 nMol/ml ergaben sich die aus dem Plasma wiedergefundenen Mengen in Prozent der direkt gemessenen Mengen (Angaben in Mittelwert MW und Variationskoeffizient VK bei $n = 7$):

40 nMol/ml -	AP	MW 88 %	VK 3 %
	MM	MW 71 %	VK 5 %
	AAP	MW 57 %	VK 8 %
	AcAAP	MW 85 %	VK 7 %
	N-FAAP	MW 87 %	VK 5 %
10 nMol/ml -	AP	MW 90 %	VK 8 %
	MM	MW 70 %	VK 10 %
	AAP	MW 26 %	VK 11 %
	AcAAP	MW 81 %	VK 10 %
	N-FAAP	MW 82 %	VK 10 %

ad 2.: Eine siebenfache Messung der gleichen Probe ergab die folgende Variation (Variationskoeffizient, %) in Retentionszeit und Peakfläche:

	Retentionszeit	Peakfläche
AP	0,8 %	3,0 %
MM	0,8 %	3,2 %
AAP	0,7 %	3,1 %
AcAAP	0,7 %	3,9 %
N-FAAP	0,9 %	5,3 %

ad 3.: Extraktion und Messung einer Konzentration an verschiedenen Tagen brachte Variationskoeffizienten für AP von 8,0 % und ca. 10 % für die Metaboliten.

II. C. 9. Chromatogramm - Beispiele

Abb. 5 zeigt das typische Chromatogramm einer Urinprobe mit synthetischer Mischung der Messsubstanzen, wie sie bei Eichreihen verwendet wurden. Zu erkennen sind die Peaks der 6 eingesetzten Substanzen in der Reihenfolge: AP, MM, Acetanilid, AAP, AcAAP und N-FAAP mit den Retentionszeiten: 10,1 min, 17,0 min, 18,5 min, 21,2 min, 22,5 min und 23,8 min.

Ein gesamter Chromatogrammlauf dauert 40 min einschliesslich der Zeit für die Regenerierung der Säule. Am Ende der Laufzeit wird die Säule jeweils mit 100 % Isopropanol gewaschen und anschliessend mit den Ausgangskonzentrationen Hexan: Dichlormethan: Isopropanol (89:10:1) neu konditioniert. Die Säule zeigte nach ca. 500 gemessenen Proben keine Veränderung ihrer Eigenschaften. Zwischenzeitliche Veränderungen in Retentionszeit oder Peakform konnten jeweils durch längeres Konditionieren, wie oben beschrieben, behoben werden.

Abb. 10 c zeigt eine Leerwerturinprobe eines Leberzirrhotikers ohne Spironolacton-Therapie. Die Störung der Basislinie durch endogene Peaks

ist minimal. Der zur AP-Retentionszeit auftretende Störpeak ist durch das Lösungsmittel bedingt und sehr konstant, somit subtrahierbar.

Abb. 10 a und 10 b zeigen Chromatogramme von Urinproben des gleichen Patienten, 12 bzw. 24 h nach Gabe von AP. Es konnten AP sowie die Metaboliten MM, AAP, AcAAP und N-FAAP nachgewiesen werden. Im Plasma dieses Patienten wurden nach 6 h die in Abb. 10 d dargestellten Stoffe nachgewiesen.

Bei Patienten ohne Spironolacton-Medikation war eine ausreichende Trennung der einzelnen Metabolite sowohl im Plasma wie im Urin ohne Störeffekte möglich.

Dagegen zeigt das Leerwertchromatogramm eines Leberzirrhotikers unter Spironolactontherapie in Abb. 11 c, dass hier Peaks auftreten, die dem Spironolacton oder seinen Metaboliten zugeschrieben werden müssen.

Abb. 11 a vom Urin des gleichen Patienten 12 h nach Gabe von AP zeigt aber, dass die chromatographischen Bedingungen so gewählt wurden, dass eine entscheidende Störung der 6 Messsubstanzen nicht vorliegt.

Abb. 11 b zeigt den Urin des gleichen Patienten 12-24 h nach AP-Gabe und Abb. 11 d die Plasmaextraktion des Patienten 10 h nach Einnahme von AP. Auch hier finden sich zusätzliche Störpeaks.

Vereinzelt traten bei einigen Patienten zusätzliche Störpeaks für einzelne Metaboliten auf, die wohl auf die verschiedene Medikation der einzelnen Patienten zurückzuführen ist. In solchen Fällen wurde die aus beiden Leerwertproben der ersten zwei Versuchstage gemittelten Peakflächen von der Metabolitenpeakfläche subtrahiert.

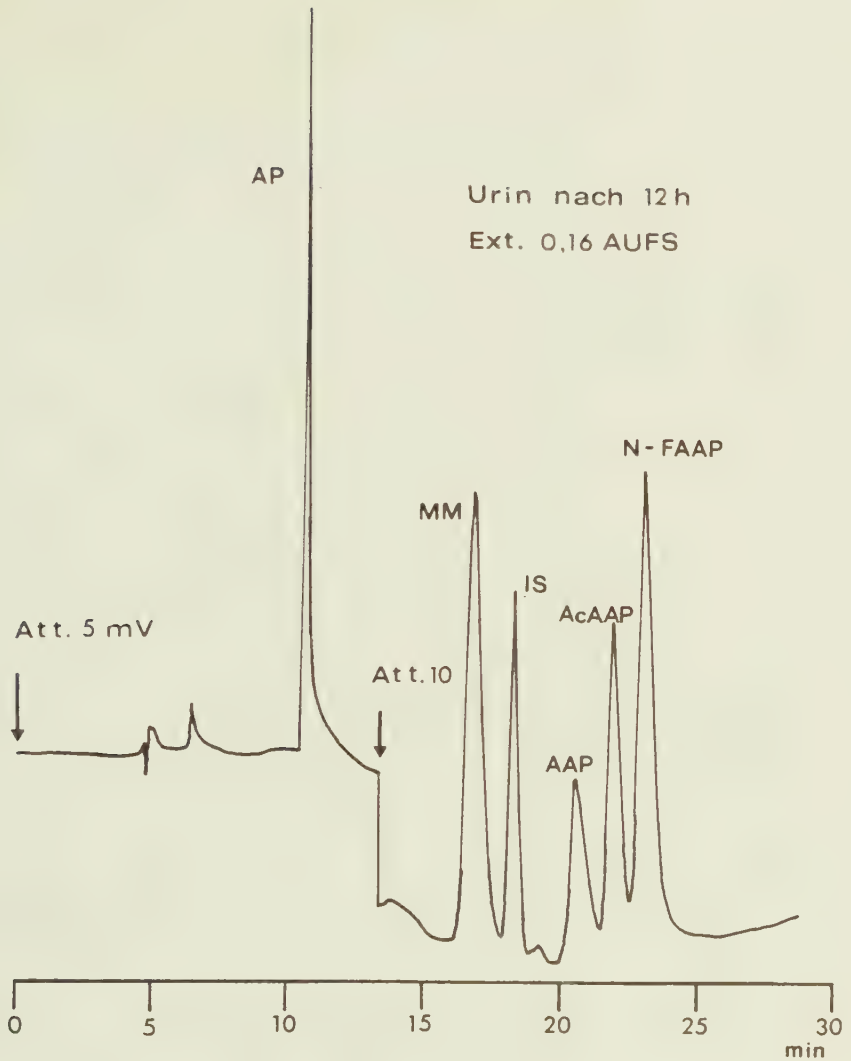


Abb. 10 a: Urinprobe von Pa. J. M. (ohne Spironolacton)
12 h nach Gabe von Amidopyrin
Interner Standard (IS): 30 µg Acetanilid

Urin nach 24 h

Ext 0.16 AUFS

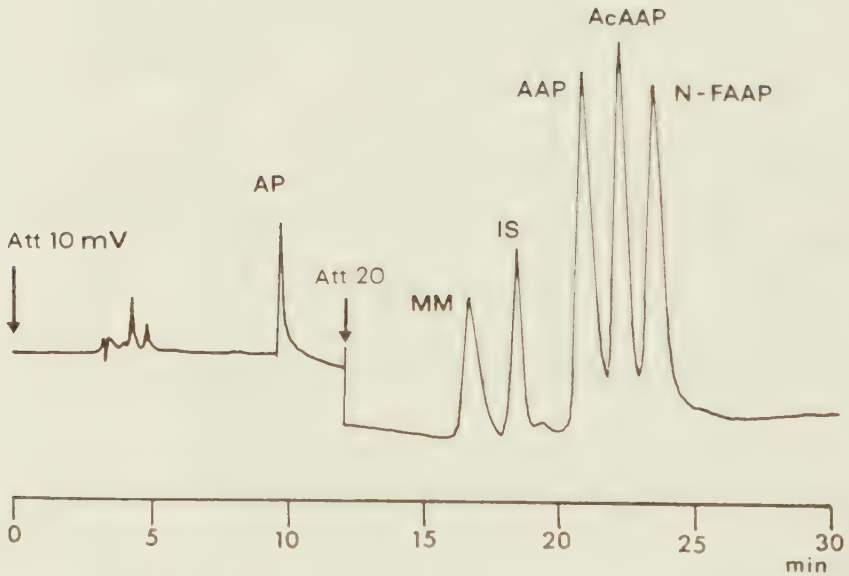


Abb. 10 b: Urinprobe von Pat. J. M. (ohne Spironolacton)

24 h nach Gabe von Amidopyrin

Interner Standard (IS): 30 µg Acetanilid

Urin-Leerwert
Ext. 0,16 AUFS

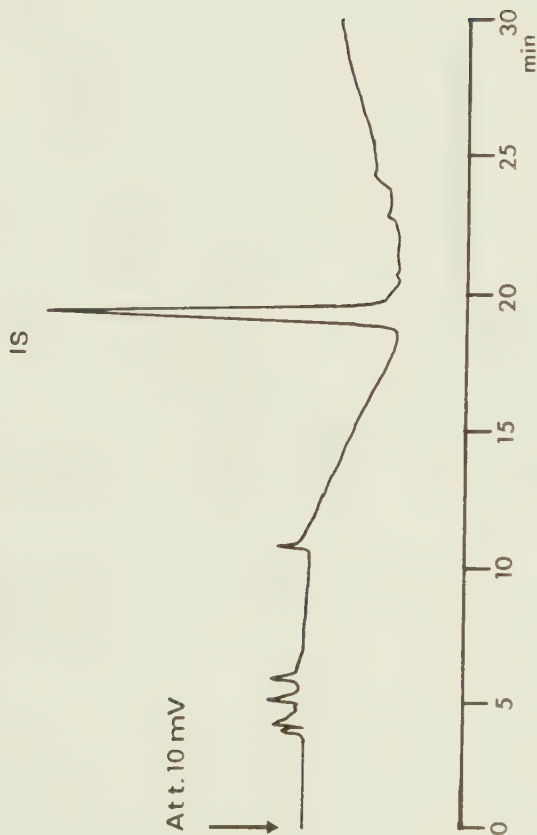


Abb. 10 c: Leerwert-Urinprobe von
Pat. J. M. (ohne Spironolacton)
Interner Standard: 30 µg Acetanilid

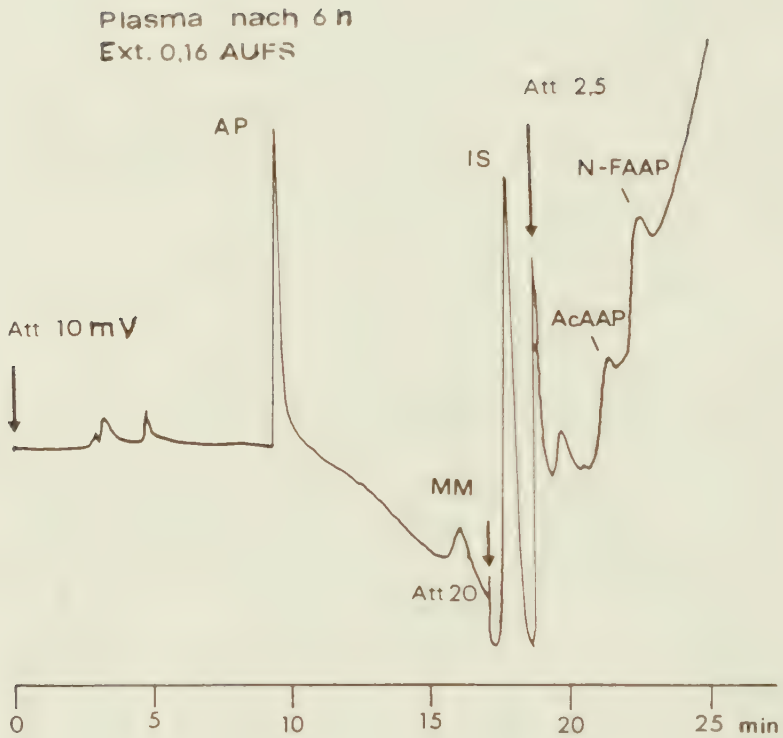


Abb. 10 d: Plasmaprobe von Pat. J. M. (ohne
Spironolacton) 6 h nach Gabe von Amidopyrin
Interner Standard: 20 µg Acetanilid

Urin nach 12 h

Att. : 10 mV

Ext. : 0,16 AUFS

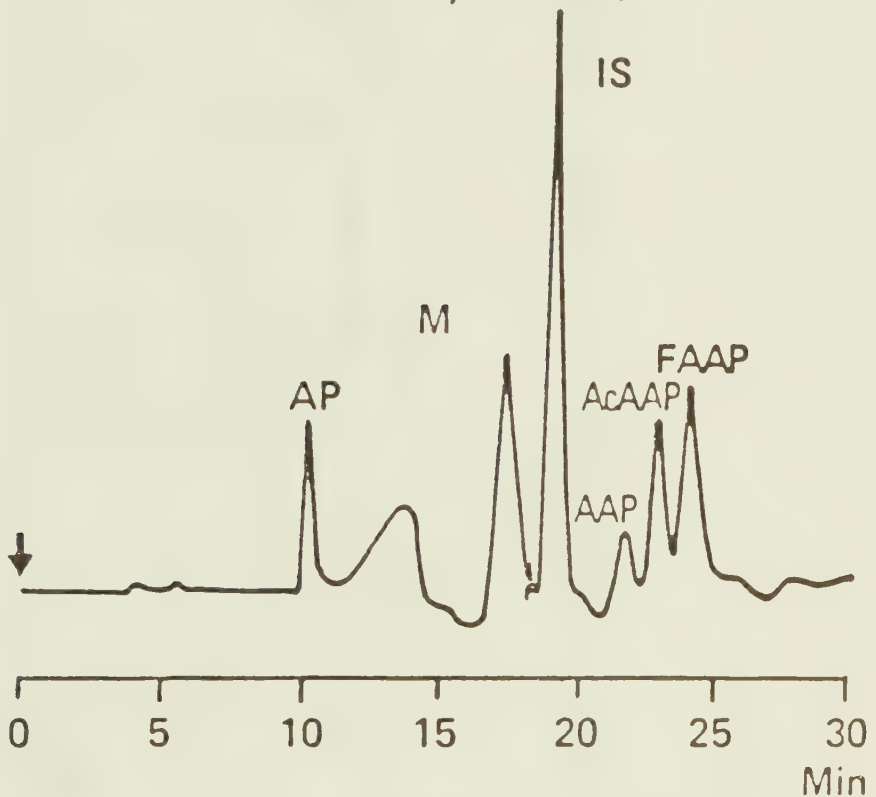


Abb. 11 a: Urinprobe von Pat. A. J. (mit Spironolacton)

12 h nach Gabe von Amidopyrin

Interner Standard: 30 µg Acetanilid

Urin nach 24 h

Att. : 10 mV

Ext. : 0,16 AUFS

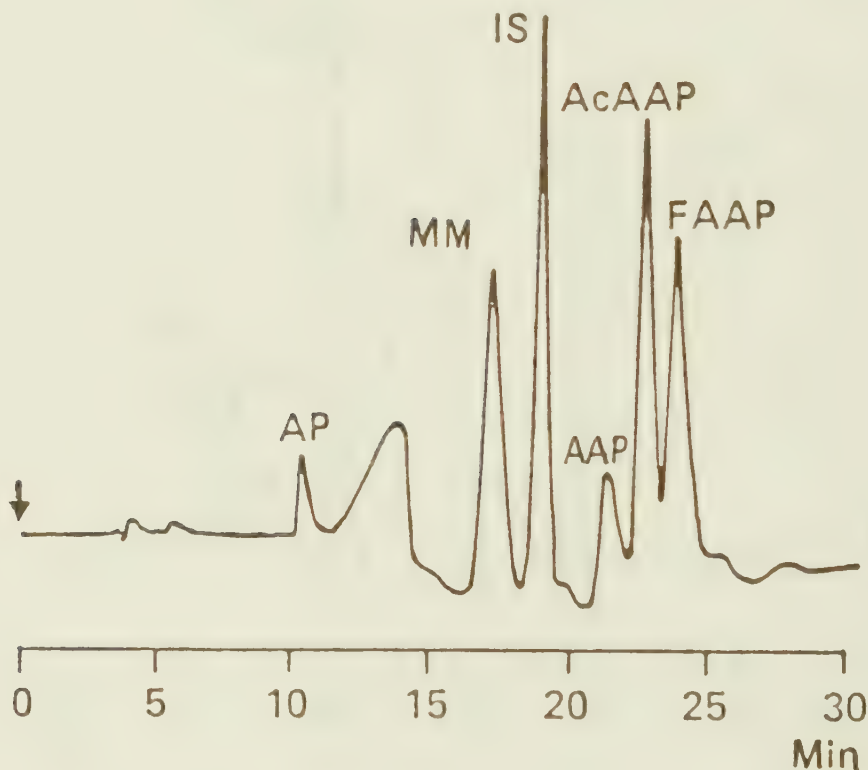


Abb. 11 b: Urinprobe von Pat A J (mit Spironolacton)

24 h nach Gabe von Amidopyrin

Interner Standard : 30 µg Acetanilid

IS

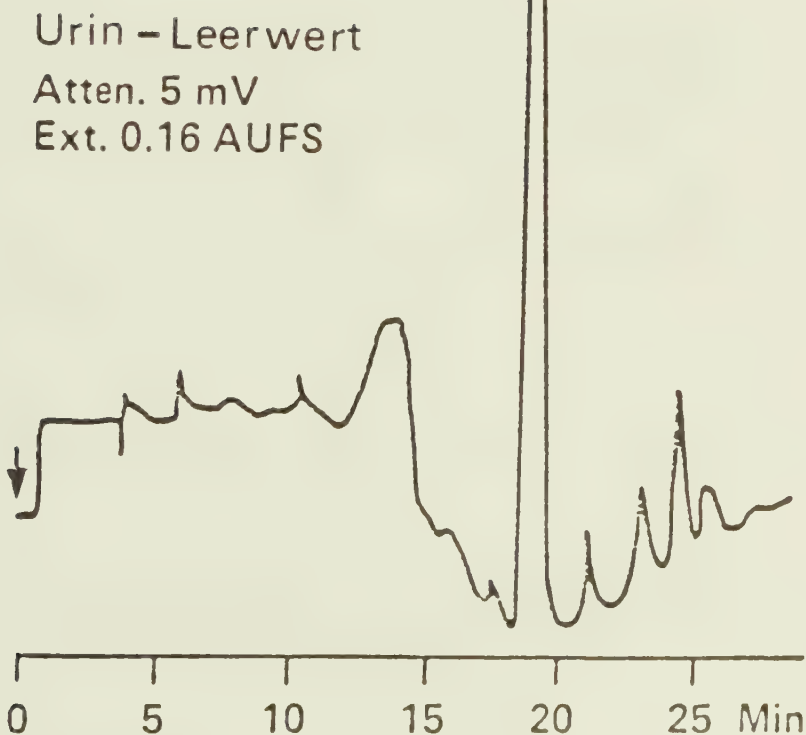


Abb. 11 c : Leerwert-Urinprobe von Pat. A. J. (mit Spironolacton). Interner Standard: 30 µg Acetanilid



Abb. 11 d: Plasmaproben von Pat. A. J (mit
Spironolacton) 6 h nach Gabe von Amidopyrin
Interner Standard (IS) : 20 µg Acetanilid

II. C.10. Auswertung der Urin - Messung

Den Eichreihen wurde, wie beschrieben, die gemessene Konzentration entnommen. Diese Konzentration wurde, auf die Tagesmenge bezogen und um die ermittelte Leerwertmenge korrigiert. Nach Umrechnung in molare Einheiten erhielt man die Gesamtmenge, die in dem entsprechenden Zeitintervall ausgeschieden wurde. Die Angabe erfolgte schliesslich in Prozenten der gegebenen Dosis.

II. C.11. Auswertung der Plasma - Messung

Die gemessenen Plasmakonzentrationen y_i werden auf der Ordinate eines Koordinatensystems in halblogarithmischem Masstab eingetragen, die Entnahmezeiten t_i dagegen linear auf der Abszisse. Die sich ergebende Ausgleichsgerade ist die graphische Logarithmierung der Funktion:

$$y = y_o \cdot e^{-k_e t}$$

Die Zeit, in der die fiktive Ausgangskonzentration y_o auf die Hälfte absinkt, ist als Halbwertszeit $t_{1/2}$ definiert (20):

$$\text{I. } \frac{y_o}{2} = y_o \cdot e^{-k_e(t_{1/2})}$$

durch Division und Logarithmieren ergibt sich:

$$\text{II. } t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$

$t_{1/2}$ wird graphisch ermittelt.

Das Verteilungsvolumen V ergibt sich als Verhältnis von Dosis des Medikaments zur fiktiven Anfangskonzentration y_o :

$$V = \frac{D}{y_o}$$

Bezieht man das Verteilungsvolumen auf das Körpergewicht KG, ergibt sich der Plasmadistributionskoeffizient Δ :

$$\Delta = \frac{D}{V_o \text{ KG}} = \frac{V}{\text{KG}}$$

Das Produkt von Eliminationskonstante k_e und Verteilungsvolumen V ergibt das virtuelle Plasmavolumen, welches pro Zeiteinheit von der entsprechenden Substanz geklärt wird und als Clearance bezeichnet wird:

$$\begin{aligned} \text{Cl}_{\text{tot}} &= k_e V && \text{oder nach II. :} \\ \text{III.} \quad \text{Cl}_{\text{tot}} &= \frac{\ln 2}{t_{1/2}} V = \frac{\text{Dosis oral}}{y_o} k_e \end{aligned}$$

Ermittelt werden:

$t_{1/2}$	=	Halbwertszeit (h)
Cl_{tot}	=	Clearance totalis (ml/min)
k_e	=	Eliminationskonstante (h^{-1})
V	=	Verteilungsvolumen (l)
Δ	=	Plasma-Distributionskoeffizient ($\text{l} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Zur Gewinnung dieser pharmakokinetischen Grössen wurde ein Programm für den WANG Tischcomputer 720 C verwendet, das bei Eingabe der Zeit- und Messwerte, der applizierten Dosis und des Körpergewichts, die Ergebnisse gemäss einem Ein-Kompartiment-Modell liefert.

Bei der Interpretation ist zu berücksichtigen:

Da die Amidopyrin-Dosis oral gegeben wurde, erreicht nur der Anteil

$$F = 1 - \text{Extraktionsquote}$$

die systemische Zirkulation, d. h., die nach Formel (III) berechneten Clearance-Werte stellen eine Überschätzung der systemischen Clearance dar und entsprechen eher der intrinsic clearance (78).

II. C.12. Statistische Auswertung

Angegeben wird der Mittelwert (MW), seine Standardabweichung (SD) sowie der Variationskoeffizient (VK in %).

Die Ergebnisse der Patienten mit bzw. ohne Spironolactonmedikation wurden auf signifikante Unterschiede mit dem Wilcoxon - Test für nicht gepaarte Stichproben untersucht.

Es wurden ferner Korrelationen zwischen Plasma- und Urinergebnissen bzw. zwischen Plasma- und Urinergebnissen und klinischen Labordaten untersucht. Der Korrelationskoeffizient r wurde nach dem Prinzip der kleinsten Quadrate berechnet. Er dient lediglich zur Hypothesenfindung, da eine begrenzte Aussagefähigkeit durch die Kleinheit ($n=13$) und relative Inhomogenität des Kollektivs (Leberzirrhotiker mit und ohne Dekompensation) gegeben ist.

III. ERGEBNISSE

Die vorliegenden Ergebnisse der Plasma- und Urinmessungen von Patienten mit Leberzirrhose gestatten einen Überblick über das Ausmass der Metabolisierung von AP in einem Zeitraum von 48 h nach oraler Gabe von 10 mg/kg KG.

III. A. Plasmakonzentrationen von Amidopyrin und Metaboliten

Amidopyrin

Tab. B gibt die durch HPLC-Messung gewonnenen pharmakokinetischen Parameter des AP-Stoffwechsels bei 14 Leberzirrhotikern wieder. Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ liegt im Durchschnitt bei 6,9 h und variiert von 4,1 bis 14,5 h. Die Clearance totalis Cl_{tot} liegt im Durchschnitt bei 94 ml/min und variiert von 33 ml/min bis 168 ml/min. Ferner sind Tab. B die Werte für die Eliminationskonstante k_e , das Verteilungsvolumen V und den Distributionskoeffizienten Δ^* zu entnehmen.

AP: Die Abb. 12 - 16 geben Beispiele sowohl für rasche wie für langsame AP-Elimination wieder. Bei drei Patienten (J. M., H. H., X. B.) war die Resorptionsphase von AP verlängert, so dass erst nach 4 h ein Konzentrationsabfall beobachtet werden konnte.

Bei einem Patienten kommt es erst nach 8 h zu einem Absinken der Plasmakonzentration von AP (Abb. 16). Eine Bestimmung der Eliminationskinetik war hier nicht möglich.

Die 14 Patienten der Tab. B zeigen maximale AP-Plasmakonzentrationen von 28 bis 65 nMol/ml (entspricht 6,5 bis 15,0 $\mu\text{g/ml}$).

Patienten	AP:				
	t 1/2	k _e	Cl _{tot}	V	Δ'
H.K.	4,1	0,17	137	48,4	0,55
G.J.	4,7	0,15	82	33,4	0,45
H.H.	9,8	0,07	43	36,5	0,58
E.B.	5,4	0,13	85	39,4	0,70
D.S.	14,5	0,05	33	41,6	0,58
H.G.	4,8	0,14	113	47,6	0,79
G.P.	4,6	0,16	108	41,5	0,65
F.W.	8,3	0,08	88	63,8	0,83
A.J.	8,6	0,08	77	57,1	0,83
J.M.	7,6	0,09	73	48,6	0,64
X.B.	11,1	0,06	53	51,3	0,59
C.B.	4,3	0,16	143	54,1	1,08
A.D.	4,5	0,15	168	65,9	1,12
Z.T.	5,6	0,12	165	79,0	1,24
$\bar{X}$	6,9	0,12	94	50,6	0,76
S.D.	$\pm 3,5$	$\pm 0,04$	± 44	$\pm 12,6$	$\pm 0,24$
	(h)	(h ⁻¹)	(ml/min)	(l)	(l/kg)

Tab. B: Amidopyrin-Stoffwechselfparameter von
 14 Leberzirrhotikern (Plasma-HPLC-Messung):
 Halbwertszeit t 1/2, Eliminationskonstante k_e,
 Clearance totalis Cl_{tot}, Verteilungsvolumen V
 und Distributionskoeffizient Δ'.

	Patienten :											$\bar{X}$ S.D.
	H.K.	G.J.	H.H.	E.B.	D.S.	H.G.	G.P.	J.M.	X.B.	C.B.	A.D.	
t 1/2 _{HPLC}	4,1	4,7	9,8	5,4	14,5	4,8	4,6	7,6	11,1	4,3	4,5	6,9 $\pm$ 3,5 (h)
t 1/2 _{GC}	3,6	5,8	10,5	5,0	16,2	5,0	4,4	8,4	11,9	4,6	4,4	7,3 $\pm$ 4,0 (h)
Cl _{tot} /HPLC	137	82	43	85	33	113	108	73	53	143	168	94 $\pm$ 44 (ml/min)
Cl _{tot} /GC	148	83	38	83	32	123	110	68	62	110	162	93 $\pm$ 42 (ml/min)

Tab. C: Amidopyrin-Plasmaergebnisse: Vergleich der HPLC-Messung mit der GC-Messung bei 11 Leberzirrhotikern

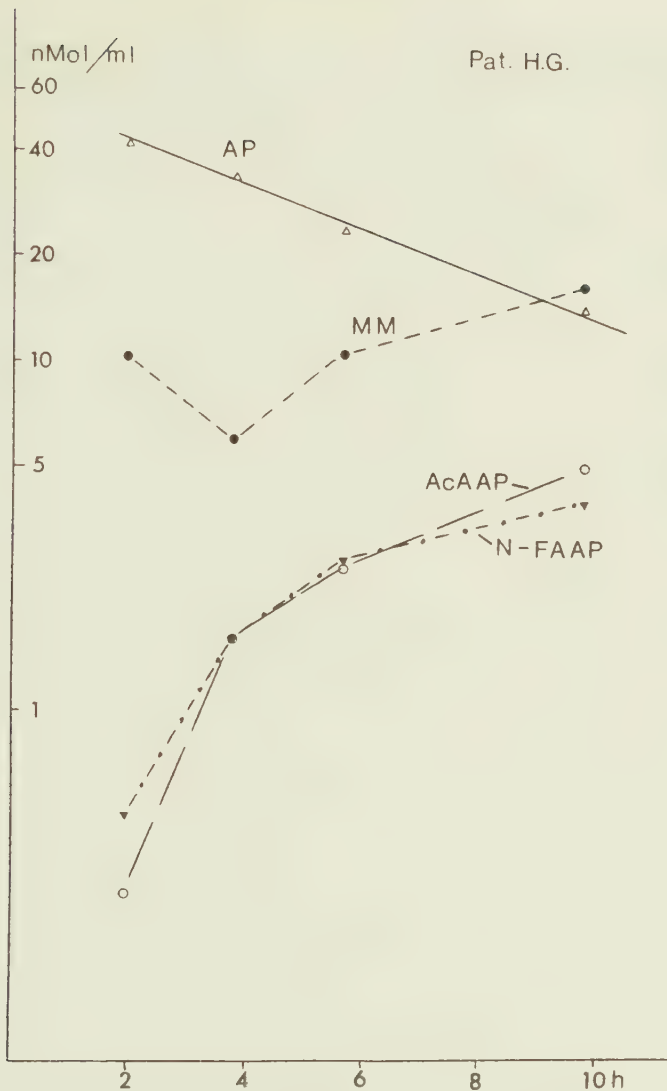


Abb. 12; Plasmaergebnisse Pat. H. G.: kurze
 Amidopyrin-Halbwertszeit ($t_{1/2} = 4,8 \text{ h}$)
 und ansteigende Monomethylaminoantipyrin (MM) -
 Kurve, Auftreten von AcAAP und N-FAAP

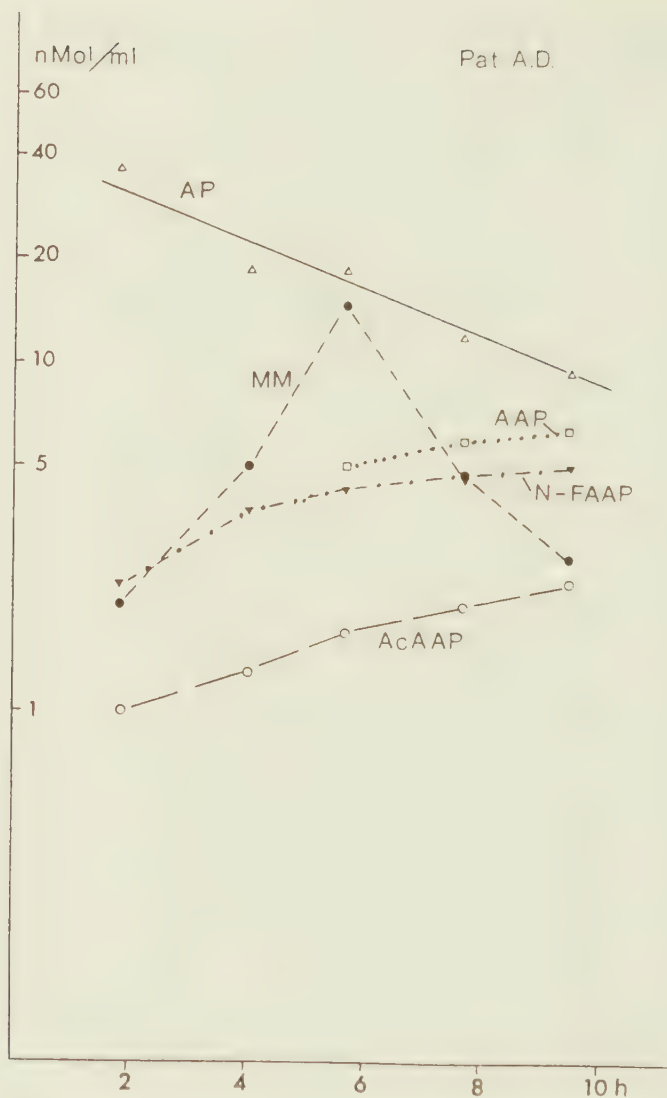


Abb. 13: Plasmaergebnisse Pat. A D : kurze Amidopyrin-Halbwertszeit ($t_{1/2} = 4,5$ h) und raschere Monomethylaminoantipyrin (MM)-Eliminierung. Auftreten von AAP, AcAAP und N-FAAP

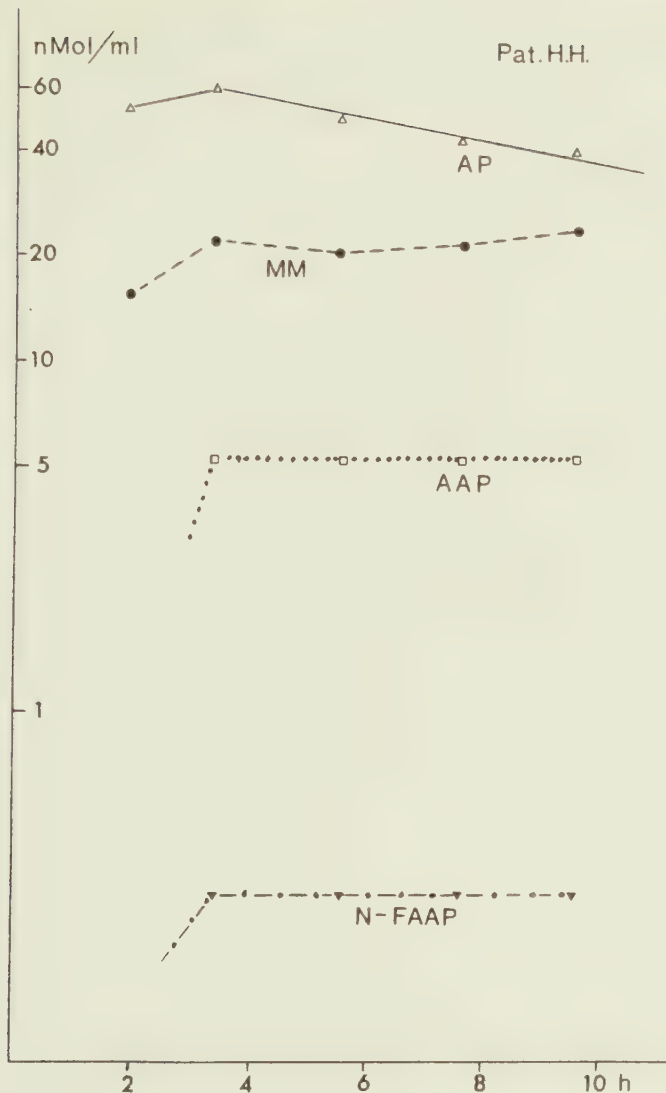


Abb. 14: Plasmaergebnisse Pat. H. H : lange
Amidopyrin-Halbwertszeit ($t_{1/2} = 9,8$ h) und
langsame Monomethylaminoantipyrin (MM) -
Eliminierung, Auftreten von AAP und N-FAAP

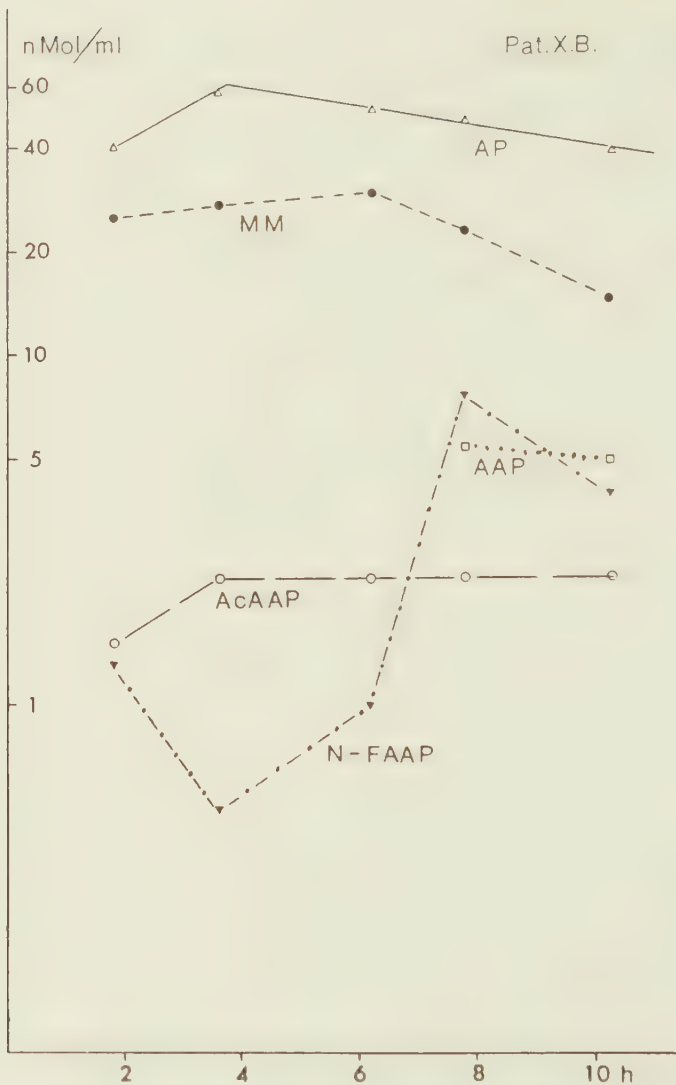


Abb. 15: Plasmaergebnisse Pat. X B : lange Amidopyrin-Halbwertszeit ($t_{1/2} = 11,1$ h) und raschere Monomethylaminoantipyrin (MM) - Eliminierung
Auftreten von AAP, AcAAP und N-FAAP



Abb. 16: Plasmaergebnisse Pat. G. C.: Verzögerte Amidopyrin-Anflutung. Kein exponentieller Konzentrationsabfall im Untersuchungszeitraum, Auftreten der Metaboliten

Vergleich der AP-Messung mittels GC bzw. HPLC

Die Plasmakonzentrationen von AP wurden sowohl mit der HPLC-Methode wie auch mit der GC-Methode bestimmt.

Tab. C vergleicht die aus diesen getrennten Messungen gewonnenen Parameter $t_{1/2}$ und Cl_{tot} . Es ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse.

Amidopyrin - Metabolite

MM: MM, das Demethylierungsprodukt von AP und gleichzeitig Substrat der Weiterverstoffwechselung, zeigt keinen einheitlichen Konzentrationsverlauf. Bei 9 von 14 Patienten überwiegt in den ersten Stunden die Anflutung des Produkts, so dass es zu einem aszendierenden Konzentrationsverlauf kommt. Später dagegen überwiegt die Abflutung, d. h., die Ausscheidung und Metabolisierung überwiegen, die Kurve deszendiert. Bei 5 von 14 Patienten ist der Kurvenverlauf über den gesamten Messzeitraum aszendierend, d. h., die Anflutung überwiegt die Abflutung.

Die maximalen MM-Konzentrationen liegen zwischen 6 und 85 nMol/ml.

AAP: Das Demethylierungsprodukt von MM, AAP, ist in seinem Konzentrationsverlauf teils nicht zu beurteilen, da die Plasmakonzentrationen zum grössten Teil unter der quantitativen Messgrenze der Methode von 5 nMol/ml für AAP lagen. Die gefundenen Werte lagen bei maximal 10,0 nMol/ml und damit deutlich unter denen von AP und MM.

Eine Abhängigkeit des AAP-Konzentrationsverlaufs von der Eliminierung von AP oder MM konnte nicht gefunden werden.

N-FAAP und AcAAP: Die Metabolisierungsprodukte von MM und AAP, nämlich N-FAAP bzw. AcAAP konnten bei fast allen Patienten, wenn auch nur in geringer Konzentration, nachgewiesen werden. Die beiden Konzentrationskurven gehen nahezu parallel und aszendieren im Untersuchungszeitraum auf Maximalwerte von 0,7 bis 13 nMol/ml, vergleiche Abb. 12-16.

III. B. Urinkonzentrationen von Amidopyrin und Metaboliten

Gesamt-Metabolisierung: Im Sammelurin über 12 h, 24 h und 48 h der Patienten konnten AP und seine Metabolite MM, AAP, AcAAP und N-FAAP quantitativ erfasst werden.

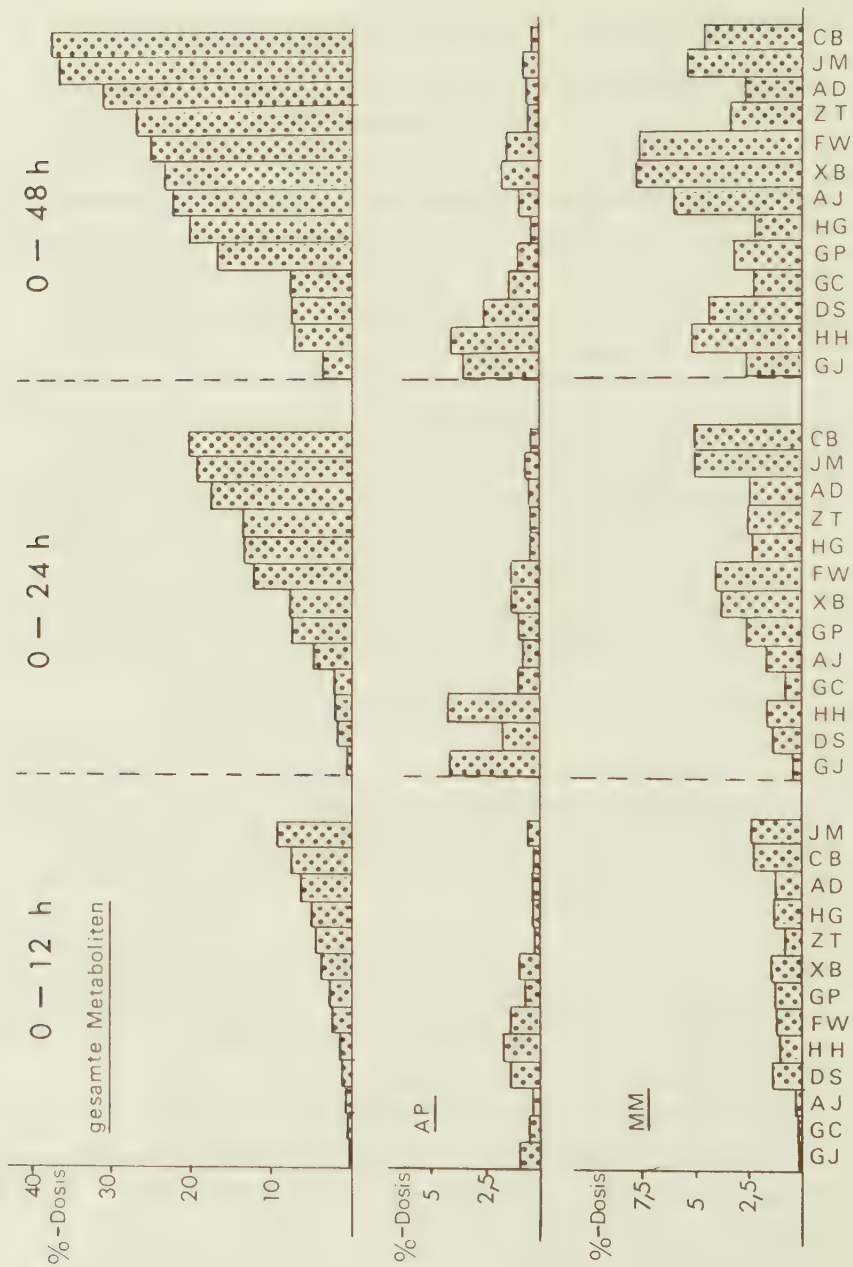
Hinsichtlich der Gesamtausscheidung an Metaboliten wurden grosse inter-individuelle Unterschiede gefunden (Abb. 17). Die 24-h-Gesamtausscheidung liegt zwischen 0,7 und 20,4 % der Dosis (MW 9,6 % der Dosis, SD 7,1). Die 48-h-Gesamtausscheidung beträgt zwischen 3,8 und 38,1 % der Dosis (MW 21,0 % der Dosis, SD 11,4).

Abb. 17 gibt das Kollektiv in der Reihenfolge der Gesamtausscheidung an Metaboliten wieder. Da die Metabolisierungsgeschwindigkeit bei den einzelnen Patienten über den Messzeitraum unterschiedlich zu- oder abnimmt, wechselt die Rangfolge zum Teil. Trotzdem wird aus Abb. 17 deutlich, dass es innerhalb des Kollektivs eine Gruppe von Wenig-Metabolisierern (z. B. Pat. GJ, HH, DS, GC) und eine Gruppe von Viel-Metabolisierern (z. B. Pat. ZT, AD, JM, CB) gibt. Eine klare Abgrenzung zu den Patienten mit mittlerer Metabolisierungsrate ist jedoch nicht möglich.

Zwei Patienten standen unter Tagamet-Therapie. Die eine (G.C.) gehört zur Gruppe der Wenig-Metabolisierer, der andere (C. B.) zu den Viel-Metabolisierern. Im mittleren Bereich liegt Patient H. G., der unter Dalmadorm - Medikation stand.

AP: Im Durchschnitt werden an unverändertem AP in 24 h nur 1,2 % der Dosis (0,3-3,1 % der Dosis, SD 0,9) ausgeschieden. Bis zum Ende des 2. Tages erhöht sich dieser Anteil nur noch minimal auf durchschnittlich 1,5 % der Dosis (0,3-4,2 % der Dosis, SD 1,3).

Auffallend ist, dass die Wenig-Metabolisierer die höchsten AP-Ausscheidungen, die Viel-Metabolisierer die niedrigsten aufweisen (Abb. 17).



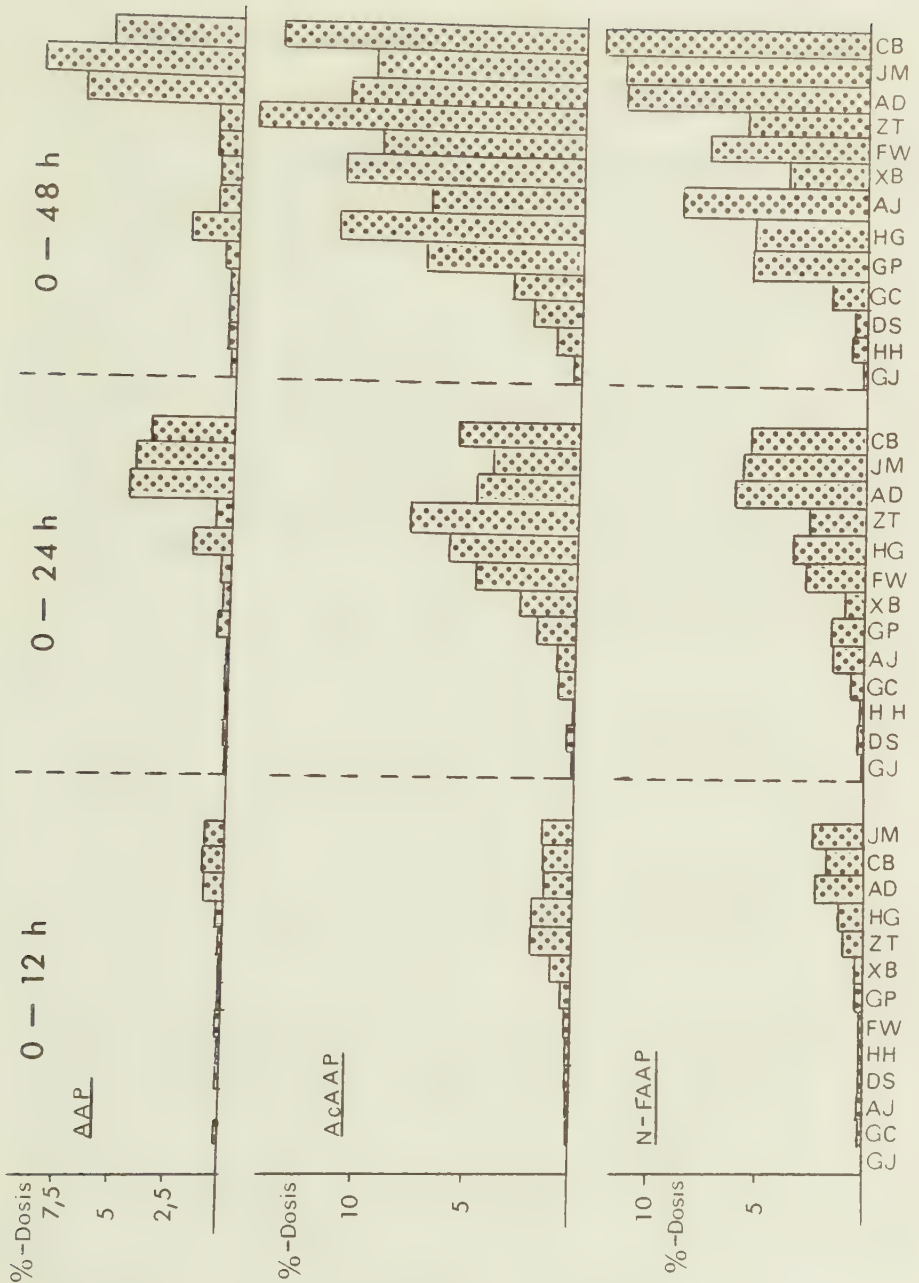


Abb. 17: Kumulative Urinausscheidung von Amidopyrin und seinen Metaboliten in 48 h nach oraler Gabe von Amidopyrin
Auftragung in der Reihenfolge der Gesamtmenge der ausgeschiedenen Metaboliten

Eine relativ hohe Korrelation besteht zwischen Gesamt-Metabolisierung und AP-Ausscheidung ($r = -0,72$, $p < 0,005$).

MM: MM findet sich recht konstant mit durchschnittlich 2,6 % der Dosis (0,6-5,2 % der Dosis, SD 1,5) im 24-h-Urin und mit durchschnittlich 4,6 % der Dosis (2,1-7,8 % der Dosis, SD 2,0) im 48-h-Urin. MM ist mit durchschnittlich 22 % an der Gesamtmenge an Metaboliten beteiligt (in 48 h).

AAP: AAP wird nur von den Viel-Metabolisierern in grösserer Menge ausgeschieden. Hier werden Werte von maximal 4,8 % der Dosis in 24 h bzw. von 9,0 % der Dosis in 48 h erreicht. Die durchschnittliche Ausscheidung liegt bei 1,4 % der Dosis (0,02-4,8 % der Dosis, SD 1,8) in 24 h und 2,4 % der Dosis (0,31-9,0 % der Dosis, SD 2,9) in 48 h. Durchschnittlich 11 % der Gesamtmetabolite werden als AAP ausgeschieden (in 48 h).

AcAAP: Der mengenmässig grösste Metabolit ist AcAAP. Im Durchschnitt werden in 24 h 3,1 % der Dosis (0,03-7,74 % der Dosis, SD 2,5) und in 48 h 8,0 % der Dosis (0,5-15,2 % der Dosis, SD 4,8) ausgeschieden. Wenig- und Viel-Metabolisierer haben auch wenig oder viel AcAAP-Ausscheidung. AcAAP hat einen Metabolitenanteil von durchschnittlich 38 % (in 48 h).

N-FAAP: Der zweitgrösste Metabolit ist N-FAAP. Es wird wie AcAAP nur gering bei Wenig-Metabolisierern und reichlich bei Viel-Metabolisierern ausgeschieden. Im Durchschnitt werden in 24 h 2,5 % der Dosis (0,01-6,4 % der Dosis, SD 2,3), in 48 h 5,8 % der Dosis (0,2-12,4 % der Dosis, SD 4,3) im Urin gefunden. N-FAAP ist mit 28 % an der Gesamtmetabolisierung beteiligt (in 48 h).

Das Kollektiv variiert erheblich hinsichtlich der Gesamtausscheidung an Metaboliten. Die Gruppe der Wenig-Metabolisierer scheidet am 2. Tag mehr Metaboliten aus als in den ersten 24 h, während die Viel-Metabolisierer in der Metabolitenausscheidung weitgehend konstant bleiben. Abb. 18 gibt diesen Sachverhalt durch das Verhältnis der Gesamtausscheidung in 48 h zu der in 24 h wieder.

Die Metabolisierung vollzieht sich in zwei Demethylierungsschritten (Abb. 1). Auf der Stufe der 1. Demethylierung finden sich MM und sein Formyl-derivat N-FAAP.

Auf der Stufe der 2. Demethylierung finden sich AAP und sein Acetylierungsprodukt AcAAP. Die Gesamtausscheidung korreliert, wie Abb. 19 u. 20 zeigen sowohl mit der Ausscheidung der Produkte des 1. Demethylierungsschrittes, MM und N-FAAP, wie auch mit der der Produkte des 2. Demethylierungsschrittes, AAP und AcAAP.

Bei einem Wenig-Metabolisierer ist also sowohl die 1. wie auch die 2. Demethylierung vermindert. Diese These unterstreicht Abb. 21: das Verhältnis der Produkte des 1. Demethylierungsschrittes zu denen des 2. ergibt für die Wenig-Metabolisierer einen relativ hohen MM- und N-FAAP-Anteil im Vergleich zum AAP - AcAAP - Anteil, für die Viel-Metabolisierer ein Überwiegen von AAP und AcAAP.

Bezüglich der Acetylierung verhält sich das Kollektiv anders (Abb. 23): die Schwankungen im Grad der Acetylierung verteilen sich über das ganze Kollektiv.

Am 1. Tag werden zwischen 4,4 % und 55 % der gesamten metabolisierten Menge als AcAAP ausgeschieden. Am 2. Tag finden sich ebenfalls sehr unterschiedliche Acetylierungsraten, die insgesamt höher liegen als am 1. Tag (zwischen 14,9 % und 70 % der gesamten Metabolite).
Siehe hierzu Abb. 23.

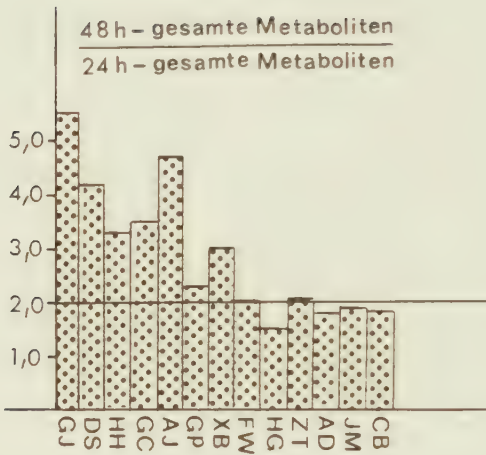


Abb. 18 : Verhältnis der 48-h- zur 24-h-Gesamtausscheidung an Metaboliten, Patienten in der Reihenfolge der Gesamtausscheidung (vergl. Abb. 17)

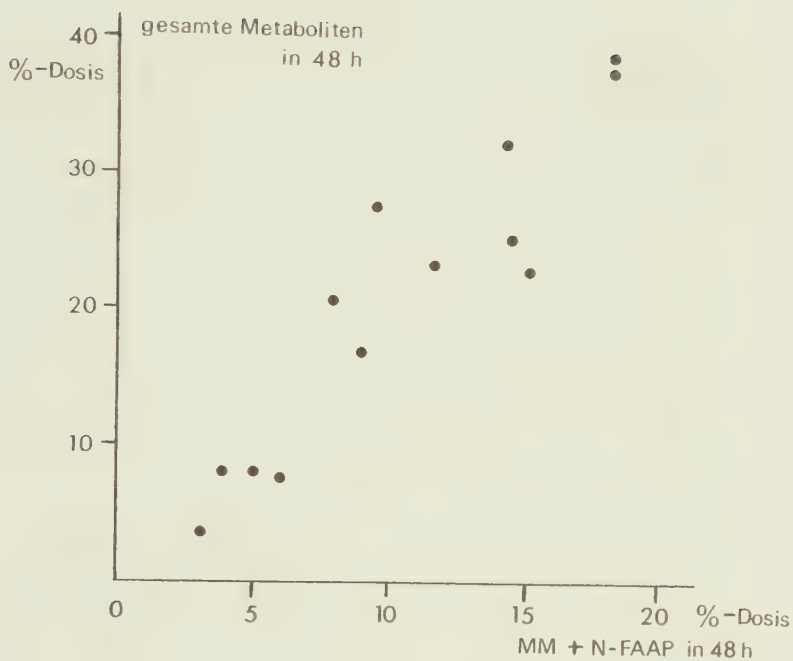


Abb. 19 : Korrelation der Produkte des 1. Demethylierungs-
schrittes MM + N-FAAP mit der Gesamtausscheidung
an Metaboliten in 48 h.

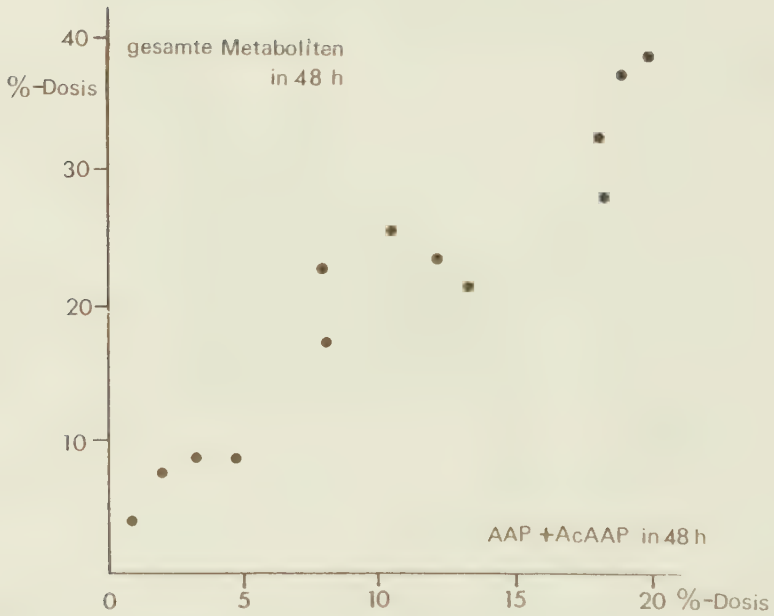


Abb. 20 : Korrelation der Produkte des 2. Demethylierungs-
schrittes AAP + AcAAP mit der Gesamtausscheidung
an Metaboliten in 48 h

Abb. 21: Verhältnis der Produkte des 1. Demethylierungsschrittes (MM + N-FAAP) zu denen des 2. Demethylierungsschrittes (AAP + AcAAP) in 24 h bzw. 48 h in der Reihenfolge der Gesamtausscheidung an Metaboliten (vgl. Abb. 17).



Abb. 22: Grad der Formylierung in Prozenten
der gesamten Metaboliten in 48 h in der
Reihenfolge der Gesamtausscheidung an
Metaboliten.

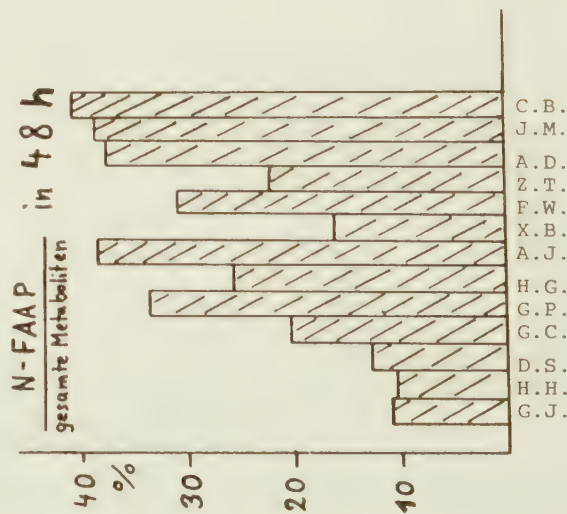
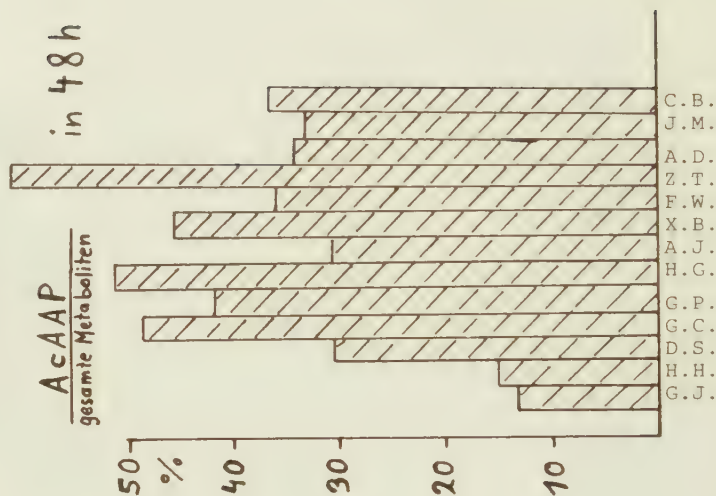


Abb. 23: Grad der Acetylierung in Prozenten
der gesamten Metaboliten in 48 h in der
Reihenfolge der Gesamtausscheidung an
Metaboliten.



Für den Grad der Formylierung findet sich der Trend zu einer Einschränkung bei Wenigst-Metabolisierern (Abb. 22).

Ansonsten ist das Ausmass der Formylierung interindividuell stark schwankend. Am 1. Tag variiert die Formylierung (N-FAAP/Ges -Met.) von 0,8 % bis 35,5 %. Am 2. Tag steigt der Anteil besonders bei den Wenig-Metabolisierern auf Werte zwischen 8,5 % und 40,0 %.

III. C. Korrelation der Plasma- und Urin-Ergebnisse

Es erhebt sich die Frage, ob die Elimination von Amidopyrin aus dem Plasma mit der Menge der gefundenen Urinmetabolite korreliert.

In Abb. 24 wird die Gesamtausscheidung in 24 h der Plasmaclearance gegenübergestellt. Es findet sich nur eine mässig hohe Korrelation ($r = 0,69$, $p < 0,05$).

In diesem Zusammenhang ist zu bedenken, dass von dem aus dem Plasma verschwundenen Amidopyrin höchstens 38 % in 48 h wiedergefunden werden. Das heisst, dass wahrscheinlich viele andere, nicht erfasste Stoffwechselwege zusätzlich begangen werden.

III. D. Patienten mit und ohne Spironolacton-Vorbehandlung

Ob sich Patienten, die unter Spironolactontherapie standen, in ihrem Stoffwechselverhalten von solchen ohne Spironolacton unterscheiden, kann hier nicht geklärt werden, da die Vergleichbarkeit der beiden Gruppen nicht gewährleistet ist.

Jedoch ergab sich für die fünf Patienten ohne Spironolacton (vergl. Tab. A) hinsichtlich der AP-Plasma-Clearance kein statistisch signifikanter Unterschied gegenüber den Patienten mit Spironolacton.

Ein signifikanter Unterschied ($p < 0,005$) errechnete sich lediglich in der Gesamtausscheidung an Metaboliten in 48 h. Die Patienten mit Spironolacton haben eine niedrigere Ausscheidung als die Patienten ohne Spironolacton.

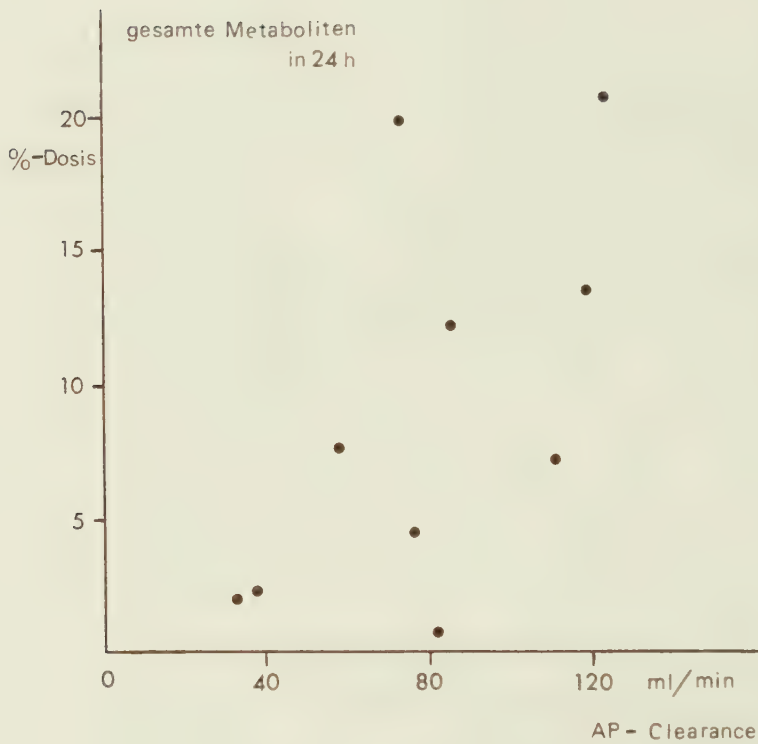


Abb. 24 : Korrelation von Amidopyrin (AP) - Clearance zur
Gesamtausscheidung an Metaboliten in 24 h.

III. E. Ergebnisse der klinischen Labordaten

Tab. D gibt die Ergebnisse der klinischen Laborparameter wieder. Die Reihenfolge der Patienten wird durch die Höhe der AP-Plasma-Clearance vorgegeben.

Folgende Befunde ragen heraus:

- (1) Eine Erniedrigung im Ges.-Eiweiss findet sich nur bei 3 Patienten, eine Albuminerniedrigung bei 5 Patienten, eine γ -Globulin-Vermehrung dagegen zeigen 9 Patienten.
- (2) Der Quick-Wert ist in 9 Fällen pathologisch, die PTT in 3 Fällen verlängert.
- (3) In 11 Fällen ist das Ges.-Bilirubin erhöht, in 9 Fällen auch das direkte Bilirubin.
- (4) In 12 Fällen ist GOT, GPT in 9 Fällen, γ -GT in 11 Fällen alkalische Phosphatase ebenfalls in 11 Fällen erhöht, GLDH ist bei 5 Patienten erhöht.
- (5) Eine ausgeprägte Kreatininerhöhung findet sich bei keinem Patienten, Grenzwertig über der Norm liegen 2 Patienten.
- (6) Bei 7 Patienten ist Cholesterin unter der Norm, nur bei 1 Patienten ist es erhöht.
- (7) Die Cholinesterase ist bei 9 gemessenen Werten 3 mal erniedrigt.

Die Mehrzahl der Patienten zeigt also bei normaler Nierenfunktion Zeichen der chronischen Leberentzündung bzw. des Leberzerfalls mit Bilirubinausscheidungsstörung und als weiterer Ausdruck der chronischen Leberentzündung eine γ -Globulinvermehrung. Die Syntheseleistung für Gerinnungsfaktoren ist oft erniedrigt, weniger betroffen ist die Albumin- und Cholinesterasesynthese.

Patienten	alk.Phosph. (U/l)	Kreatinin (μ Mol/l)	Harnsäure (μ Mol/l)	GLDH (U/l)	Cholesterin (mMol/l)	Triglyceride (mMol/l)	K ⁺ (mMol/l)	Na ⁺ (mMol/l)	Cholinesterase (U/l)
D.S.	272	57	214	3,8	10,4	1,8	4,9	131	-
G.C.	378	132	-	-	3,0	2,1	4,8	131	288
H.H.	185	96	350	0,4	1,5	1,1	3,4	130	804
X.B.	186	106	333	11,0	4,9	1,7	4,6	136	3300
J.M.	373	49	214	5,1	4,8	2,4	4,8	135	2500
A.J.	100	115	292	0,8	1,9	1,0	3,9	134	-
G.J.	416	84	232	1,0	2,4	1,3	3,4	129	1460
E.B.	313	44	250	2,0	2,7	0,6	4,8	134	-
F.W.	93	80	244	6,8	2,9	1,1	4,2	133	-
G.P.	228	43	619	2,2	5,4	1,8	4,1	134	-
H.G.	201	80	-	3,0	4,1	1,3	4,4	138	1800
C.B.	291	62	303	15,0	3,1	1,0	3,8	134	1134
A.D.	111	62	107	2,7	5,4	3,7	3,9	140	4000
Z.T.	197	71	-	-	4,7	0,7	4,5	140	1970
Norm- bereich	177 1 48	110 1 50	466 1 174	3,6 1 0,6	7,9 1 3,4	2,3 1 0,4	5,4 1 3,7	150 1 130	1220 1 3700

Patienten	Alter (a)	Körpergew. (kg)	Ges.Eiweiß (g/l)	Albumin (g/l)	γ -Globulin (g/l)	Quick (%)	PTT (sec)	Bilirubin, ges. (μ Mol/l)	Bilirubin, dir. (μ Mol/l)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	γ -GT (U/l)
D.S.	50	72	92	41	30	54	38	79	41	41	32	111
G.C.	31	70	82	37	32	39	36	369	149	35	49	38
H.H.	57	62	79	27	36	53	70	397	334	45	24	54
X.B.	51	88	91	32	37	65	39	32	20	105	105	137
J.M.	36	76	85	38	21	55	37	33	21	75	34	228
A.J.	65	69	61	28	24	62	28	70	16	44	33	16
G.J.	50	74	71	21	32	41	36	334	232	30	12	179
E.B.	64	56	64	27	22	39	40	39	21	41	35	22
F.W.	55	77	76	31	33	81	36	32	-	64	55	56
G.P.	53	64	81	45	14	107	22	149	-	19	24	91
H.G.	53	60	69	36	16	78	31	35	16	14	9	114
C.B.	38	50	59	32	13	80	25	12	0	22	15	390
A.D.	65	59	71	39	16	91	30	11	0	10	13	20
Z.T.	40	64	77	45	16	57	28	10	0	37	22	108
Norm- bereich	66 1 87	32 1 49	17 1 7	70 1 100	38 1 23	22 1 4	5 1 0	17 1 5	23 1 5	30 1 3		

Tab. D : Klinische Labordaten des untersuchten Kollektivs von 14 Leberzirrhosekranken

Die untersuchten Labordaten stellen in ihrer Gesamtheit die laborchemischen Parameter zur Beurteilung der Leberfunktion eines Patienten dar. Es stellt sich die Frage, ob eine Beziehung zwischen den untersuchten Stoffwechselparametern für AP einerseits und den dargestellten Labor-chemischen Parametern andererseits besteht.

Tab. E stellt die AP-Clearance als Arzneimittelstoffwechselparameter den Laborwerten gegenüber.

Für einen direkten statistischen Vergleich beider Faktoren ist jedoch zum einen das Kollektiv zu klein, zum anderen gibt es keine korrelationsrechnerische Theorie über einen quantitativen Zusammenhang von Laborwerten zur Art und zum Ausmass einer Lebererkrankung.

Vergleicht man aber das Kollektiv mit den vier niedrigsten Clearance-Werten mit dem Kollektiv der vier höchsten, so hat das Kollektiv mit den niedrigsten Clearance-Werten deutlich

- (1) niedrigere Quick- und höhere PTT-Werte
- (2) höhere γ -Globulin-Werte
- (3) höhere Werte im direkten, wie Ges.-Bilirubin
- (4) höhere GOT- und GPT-Werte

Kein wesentlicher Unterschied findet sich hinsichtlich Albumin, γ -GT, und alkalischer Phosphatase. Das Gesamt-Eiweiss ist bei den Wenig-Stoffwechslern erhöht: bei gleichem Albumin und höheren γ -Globulin-Werten.

Eine Beziehung zwischen hohem und niedrigem AP-Stoffwechsel einerseits und wenig- bzw. hoch-pathologischen Laborwerten andererseits scheint bei den untersuchten Leberzirrhotikern aber gegeben zu sein.

Patienten: D.S. H.H. X.B. J.M. H.G. C.B. A.D. Z.T.											
Cl _{tot}	33	43	53	73	113	143	165	165	(ml/min)		
Ø-Globulin	30	36	37	21	16	13	16	16	(g/l)		
Ges-Eiweiß	92	79	91	85	69	59	71	77	(g/l)		
Quick-Wert	54	53	65	55	78	80	91	57	(%)		
PTT	38	70	39	37	31	25	30	28	(sec)		
Bilirubin, ges.	79	397	32	33	35	12	11	10	(µmol/l)		
Bilirubin, direkt	41	334	20	21	16	0	0	0	(µmol/l)		
GOT	41	45	105	75	14	22	10	37	(U/l)		
GPT	32	25	105	34	9	15	13	22	(U/l)		
Albumin	41	27	32	38	36	32	39	45	(g/l)		
Ø-GT	111	54	137	228	114	390	20	108	(U/l)		
alk.Phos.	272	185	186	373	201	291	111	197	(U/l)		

Tab. E : Vergleich zwischen der Plasmaclearance und klinischen
Labordaten bei den vier Patienten mit den niedrigsten
bzw. den höchsten Clearancewerten.

IV.

DISKUSSION

IV. A. Diskussion der Methode

Zur Klärung des Stoffwechselverhaltens von AP ist eine Messmethode erforderlich, die folgende Kriterien erfüllen muss:

- (1) Hinreichende qualitativ-selektive Erfassung der bekannten und wichtigen Metabolite.
- (2) Quantitative Messbarkeit der einzelnen Metabolite im Messbereich der tatsächlichen Serum- und Urinkonzentrationen.
- (3) Möglichst geringe Messinterferenz mit endogenen Stoffwechselprodukten oder anderen Pharmaka.
- (4) Möglichst geringer finanzieller und zeitlicher Aufwand
- (5) Die Methode muss hinreichende Reliabilität aufweisen.

Die bisher publizierten Messmethoden, die für jeweils bestimmte Fragestellungen entwickelt wurden, können diesen Anforderungen nicht genügen: So ist die spektrophotometrische Messung von AP bei 260 nm (Brodie et al, 10) von Interferenzen z. B. mit MM begleitet. Andere spektrophotometrische Methoden beschränken sich auf eine Substanz, z. B. AP (Abdine et al, 1) oder AAP (Hepner et al, 35).

Auch verschiedene dünnschichtchromatographische Methoden erfassen entweder nur einen Teil der Metabolite, z. B. MM und AAP (Gram et al, 28) oder sie arbeiten bei zwar hinreichender qualitativer Erfassung der wichtigsten Metabolite mit einer unteren Messgrenze von z. B. 30 µg Substanz, sind also für Plasmamessungen wenig geeignet (26).

Ferner wird hier bei einem stark sauren pH extrahiert, was für die Interferenz von N-FAAP von Bedeutung sein kann (s.u.).

Besonders häufig verwendet wurde die colorimetrische Methode von Brodie et al. (9), mit der einfach und schnell AAP und AcAAP im Urin gemessen werden kann. Sie beruht auf der Bratton-Marshall-Reaktion für p-Amino-Benzol-Derivate (Abb. 25). Die freie Aminogruppe (z. B. des AAP) reagiert mit Nitrit in saurer Lösung unter Bildung eines Diazoniumsalzes, welches mit N- (1-Naphthyl) - Äthylen-Diamin zu einem stabilen Azofarbstoff gekoppelt und bei 550 nm gemessen werden kann. Während das primäre Amin AAP direkt reagiert, muss AcAAP in saurer Lösung nach 30 min Kochzeit erst zu AAP hydrolysiert werden.

Nun ergaben aber eigene Messungen, dass der Metabolit N-FAAP in saurer Lösung instabil ist. In o. g. Ansatz zerfällt er bereits zu ca. 30 % zu AAP und wird als solches gemessen (Abb. 26). Dagegen zerfällt das restliche N-FAAP nach spätestens 5 min Kochzeit und wird somit als AcAAP gemessen. N-FAAP ist aber nach eigenen Untersuchungen (s. Ergebnisteil) mit durchschnittlich 28 % an der Gesamtmetabolisierung beteiligt und somit stärker vertreten als z. B. MM oder AAP. Eine selektive Messung von AAP und AcAAP ist mit dieser Methode nicht möglich, wohl aber die Erfassung von AAP - AcAAP - N-FAAP gemeinsam.

Spezifische Messmöglichkeiten bietet die Gaschromatographie. Die angegebenen Verfahren (Bircher et al., 6, Hildebrandt et al., 40, Vesell et al., 70, Sioufi et al., 68, Windorfer et al., 79, Scherrer et al., 65, u.a.) beschränken sich aber zumeist auf die Messung von AP.

Auch eine kürzlich publizierte hochdruckflüssigkeitschromatographische Arbeit (Shimada et al., 67) misst zwar AP, MM, AAP und AcAAP gleichzeitig, lässt aber N-FAAP unberücksichtigt und hat überdies eine Messgrenze von 30 µg/ml (ca. 130 nMol/ml).

Selektive Messungen aller Metabolite können mit der GC-MS-Methode gemacht werden (Iguchi et al., Gorumaru et al., 25, 43, 44). Mit dieser Methode wurde auch erstmals N-FAAP beim Menschen beschrieben (44). Sie stellt allerdings ein Höchstmass an Aufwand dar.

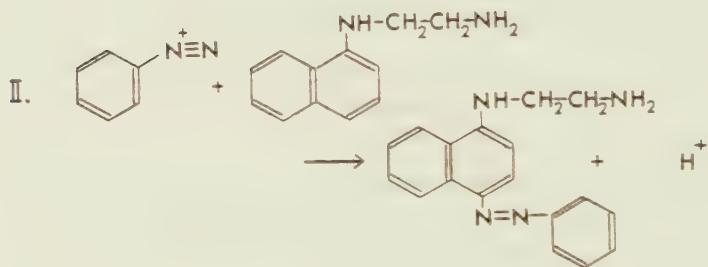
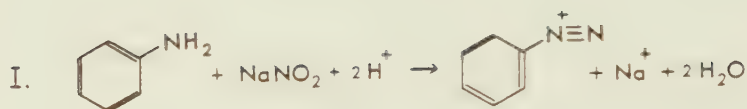


Abb. 25: Reaktion nach Bratton und Marshall :

- I. Bildung eines Diazoniumsalzes mit der freien Aminogruppe eines Amino-Benzols.
- II. Bildung eines stabilen Azofarbstoffes mit N-(1-Naphthyl) -Äthylen-Diamin.



Abb. 26: Äquimolare Mengen von AAP, AcAAP und N-FAAP werden nach verschiedenen Kochzeiten (bei 100 ° C) colorimetrisch nach der Methode von Bratton + Marshall bestimmt: Im sauren Medium wird N-FAAP zum Teil schon bei Zimmertemperatur, vollständig nach 2 min Kochzeit zu AAP hydrolysiert. AcAAP ist dagegen bei Zimmertemperatur stabil und ist erst nach ca. 15 min Kochzeit hydrolysiert.

Mit der in dieser Arbeit beschriebenen Methode ist es gelungen, auf hochdruckflüssigkeits-chromatographischem Weg AP und seine Hauptmetabolite MM, AAP, AcAAP und N-FAAP selektiv zu messen. Dies ist möglich im Serum und Sammelurin von Patienten, wobei 1 ml Plasma und 5 ml Urin ausreichend sind.

Die chromatographischen Bedingungen konnten so modifiziert werden, dass eine Interferenz mit anderen Serum- und Urinbestandteilen, speziell Spironolactonabbauprodukten, nur in geringem Umfang stattfand.

Die Reliabilität wurde ausreichend nachgewiesen. Eine parallel durchgeführte Plasma-AP-Messung mittels GC-Methode nach Hildebrandt et al. (40) ergab gut vergleichbare Werte (s. Tab. C).

Die untere Messgrenze für AP, MM, AcAAP und N-FAAP liegt bei 1 nMol/ml, für AAP ist sie 5 nMol/ml. Da im Plasma oft auch niedrigere Konzentrationen von AAP zu finden sind, ist die Methode für die Plasmamessung dieses Metaboliten wenig geeignet.

IV. B. Diskussion der Urinmessungen

In der Literatur finden sich einige wenige Angaben über Urinmessungen von AP-Metaboliten. So misst Gradnik et al. (27) die Urinausscheidung von AP, MM, AAP und AcAAP mit einer dünn-schicht-chromatographischen Methode (26).

7 gesunde Personen erhielten 500 mg AP oral. Ihr Urin wurde in Sammelperioden bis zu 56 h gemessen. Da bei der durchgeführten Extraktion bei pH 1-2 gearbeitet wurde, ist es aus o. g. Gründen wahrscheinlich, dass ein Teil des N-FAAP als AAP mitgemessen wurde und von den Autoren daher auch nicht gefunden wurde (s. Abb. 26).

Am 1. Tag scheiden die Gesunden 22,4 % der Dosis als Metaboliten und 1,1 % der Dosis als AP aus. Das eigene Zirrhotikerkollektiv schied in dieser Zeit 9,6 % der Dosis als Metaboliten und 1,2 % der Dosis als AP aus. Das sind 43 % der Metabolitenmenge der Gesunden.

Am 2. Tag verringerte sich die von den Gesunden ausgeschiedene Metabolitenmenge auf 7, 8 % der Dosis, die der Zirrhotiker stieg dagegen auf 11, 2 % der Dosis an. Die AP-Menge sank bei beiden Kollektiven auf Werte von 0, 4 bzw. 0, 3 % der Dosis.

Fasst man die beiden Tage zusammen, so betrug in 48 h die Menge an ausgeschiedenen Metaboliten bei Gesunden 30, 2 % der Dosis, bei Zirrhotikern nur 20, 8 % der Dosis, d. h. 69 %.

Nachzutragen bleibt, dass das gesunde Kollektiv von 46-56 h nur noch weitere 1 % der Dosis an Metaboliten ausschied. Die von Gradnik mitgemessenen Metabolite Rubazonsäure, Methylrubazonsäure und 4-OH-Antipyrin wurden in 56 h zu 3, 4 % der Dosis ausgeschieden.

Abb. 27 gibt eine Gegenüberstellung der Metaboliten-Ausscheidung beider Kollektive wieder. Es wird deutlich, dass die grössere Menge an Metaboliten des 1. Tages bei den Gesunden dem AcAAP zuzuschreiben ist. Am 2. Tag ist die Ausscheidung von AcAAP bei beiden ausgeglichener. Auffallend ist der hohe Anteil von MM bei den Zirrhotikern am 2. Tag. Folgende Hypothesen lassen sich aufstellen:

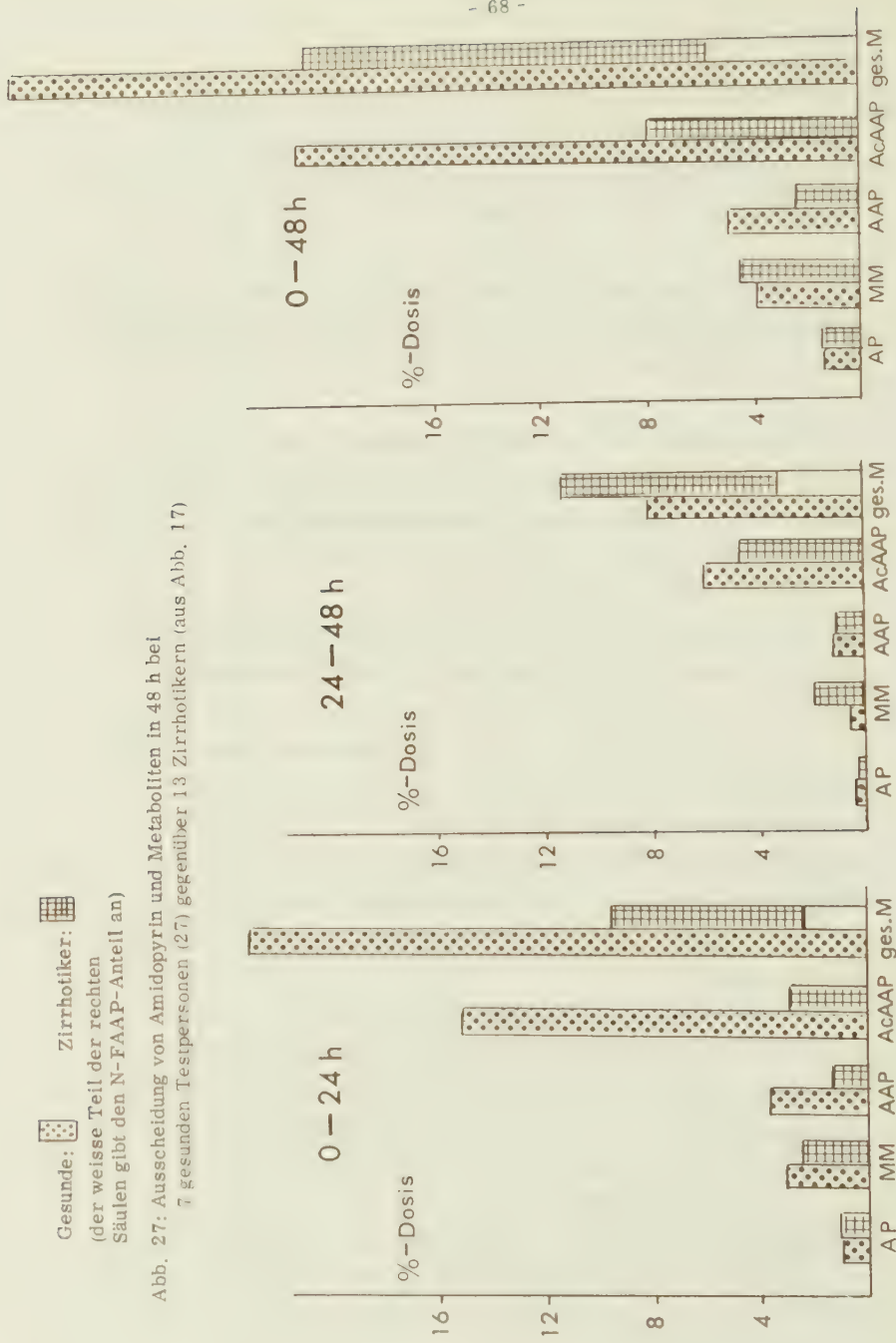
Die gesunde Leber stellt in kurzer Zeit grosse Substratmengen für die Acetylierung zur Verfügung; die oxydativen Demethylierungen verlaufen schnell und ausgiebig; das Ende der Metabolisierungskette wird in hohem Masse erreicht.

Auch bei der zirrhotischen Leber ist AcAAP (und N-FAAP) der Hauptmetabolit, jedoch in geringerem Masse. Die vorgeschalteten Metabolisierungsprodukte kumulieren relativ stärker; die Demethylierungen sind verlangsamt. Eine relativ starke Kumulation von MM im Urin deutet auf eine besonders starke Einschränkung der 2. Demethylierung hin.

Eine eingeschränkte Metabolisierung lässt sich auch im Vergleich zu den Untersuchungen von Gorumaru et al. an 7 gesunden Personen feststellen (24).

Gesunde:  Zirrhotiker: 
(der weiße Teil der rechten
Säulen gibt den N-FAAP-Anteil an)

Abb. 27: Ausscheidung von Amidopyrin und Metaboliten in 48 h bei
7 gesunden Testpersonen (27) gegenüber 13 Zirrhotikern (aus Abb. 17)



Sie bekamen 100 mg AP oral. Die Bestimmung erfolgte mit GC-MS (s. Tab. F).

Das Kollektiv von Corumaru et al. erreicht nach 48 h ähnliche Metaboliten-Mengen wie das von Gradnik u. Fleischmann: 32,9 % der Dosis. Das eigene Zirrhotikerkollektiv erreicht nur 63 % dieses Wertes.

Auch hier wird das Ausmass der metabolisierten Menge von den Endprodukten der Stoffwechselkette bestimmt: AcAAP und N-FAAP. Besonders diese Metabolite sind bei den Zirrhotikern in geringerem Masse zu finden, während insbesondere MM als Substrat der 2. Demethylierung besonders stark vertreten ist.

Mit der Methode nach Bratton und Marshall zeigten Brodie et al. (9) bei 5 gesunden Personen (je 500 mg AP) eine Ausscheidung von AAP, AcAAP und (aus o. g. messtechnischen Gründen wohl auch von) N-FAAP in Höhe von zusammen 44,1 % der Dosis in 72 h. Das Zirrhotikerkollektiv erreichte in 48 h für diese drei Metabolite nur 16,2 % der Dosis (s. Abb. 17).

18 gesunden Personen wurden im Kollektiv von Roots et al. (61) je 600 mg AP oral gegeben und deren Urinausscheidung mit der Methode nach Bratton und Marshall erfasst. Nach 24 h zeigte sich mit 24,7 % der Dosis an ausgeschiedenem AAP und AcAAP (und N-FAAP) eine vierfach höhere Menge als im eigenen Kollektiv (7 % der Dosis für die drei genannten Metabolite).

Interessant ist auch folgender Vergleich:

Ein Kollektiv von 12 Zirrhotikern (Roots et al., 62) erhielt MM in zu AP äquimolaren Dosen (15 mg/kg KG als Novalgin^R).

Mit der Bratton-Marshall-Methode konnte hier die gesamte metabolisierte Menge : AAP + AcAAP + N-FAAP erfasst werden. Sie sei der Gesamtmetabolisierung des eigenen Zirrhotikerkollektivs gegenübergestellt:

Nach 24 h finden sich im MM-Kollektiv 9,7 % der Dosis als Metabolite im Urin wieder an, im eigenen AP-Kollektiv waren es 9,6 % der Dosis

0 - 48 h	Gesunde (n=7)	Zirrhotiker (n=13)
AP	0,3	1,5
MM	1,9	4,6
AAP	3,9	2,4
ACAAP	18,9	8,0
N-FAAP	8,2	5,6
gesamte Met. (ohne AP)	32,9 (%Dosis)	20,8 (%Dosis)

Tab. F: Vergleich von 7 gesunden Testpersonen (24) zum eigenen Kollektiv hinsichtlich der Urinausscheidung von Amidopyrin (AP) und Metaboliten in 48 h.

Am 2. Tag sinkt die Ausscheidung des MM-Kollektivs auf 7,8 % der Dosis, die des AP-Kollektivs aber steigt auf 11,2 % der Dosis an.

Daraus lässt sich folgern: beide Zirrhotikerkollektive haben eine eingeschränkte Metabolisierung, für MM (Novalgin^R) und Amidopyrin etwa in gleichem Ausmass.

Das untersuchte Zirrhotikerkollektiv zeigt also eine deutliche Verminderung der Metabolisierung von AP. Innerhalb des Kollektivs zeigen sich grosse interindividuelle Unterschiede im Ausmass dieser Einschränkung. Mehrere Zirrhotiker erreichen Werte, die im Bereich von Normalkollektiven liegen (mehr als 17 % der Dosis in 24 h).

Ein Zirrhotiker lässt sich also auf Grund der gesamten metabolisierten Menge nicht immer von einer gesunden Testperson unterscheiden.

Im folgenden sollen die einzelnen Metabolisierungsschritte im einzelnen betrachtet werden:

1. Demethylierung: AP $\longrightarrow$ MM

Dass dieser Schritt vermindert ist, ergibt sich aus der erniedrigten Gesamtmetabolisierungsrate gegenüber gesunden Testpersonen (s. Tab. F und Abb. 27). Innerhalb des Kollektivs variiert die Gesamtmetabolisierung um den Faktor 10 (s. Abb. 17). Der Zirrhotiker ist in den meisten Fällen in der Lage, die Menge an ausgeschiedenen Metaboliten am 2. Tag kompensatorisch zu steigern (s. Abb. 18). Hier werden teilweise höhere Werte als bei gesunden Testpersonen gefunden.

Bei Gesunden mag sich dies aus dem geringeren Substratangebot am 2. Tag erklären: bei einer Halbwertszeit von 3 h sind nach 24 h rechnerisch noch 0,39 % der Ausgangsmenge an AP vorhanden, bei der ermittelten durchschnittlichen Halbwertszeit des Leberzirrhotikers von 7 h aber noch 9,4 %.

Bei Zirrhotikern ist die oft höhere Metabolitenmenge des 2. Tages möglicherweise durch einen additiven Effekt der Verlängerung der Halbwertszeit sowohl von AP wie vielleicht auch der Metaboliten wie MM und AAP zu erklären, die noch weiter metabolisiert werden.

Für eine verlangsamt anlaufende Metabolisierung wäre eine weitere Erklärungsmöglichkeit eine verzögerte Resorption (74, 76)

Wäre der erste Demethylierungsschritt isoliert eingeschränkt, liesse sich eine gleichmässige Verminderung aller weiteren Metabolite erwarten. Tatsächlich beträgt aber das Verhältnis von ausgeschiedenen Produkten des 1. Demethylierungsschrittes zu denen des 2. Demethylierungsschrittes

$$MM + N\text{-FAAP} / AAP + \text{AcAAP}$$

beim gesunden Kollektiv von Gorumaru et al. (24) 1 : 2, dagegen beim eigenen Zirrhotikerkollektiv 1 : 1 (s. Tab. F).

Die 2. Demethylierung $MM \longrightarrow AAP$ ist also ebenfalls eingeschränkt. Dies zeigt sich auch innerhalb des Zirrhotikerkollektivs:

Die Gesamtausscheidung korreliert, wie Abb. 19 und 20 zeigen, nicht nur mit den Produkten der 1. Demethylierung, sondern auch mit denen der 2. Demethylierung. Das Verhältnis beider Produktsummen $MM + N\text{-FAAP} / AAP + \text{AcAAP}$ zeigt in Abb. 21; je niedriger die Gesamtmetabolisierung ist, desto geringer der Anteil an $AAP + \text{AcAAP}$. Mit anderen Worten: Ist die Stoffwechselleistung des 1. Schrittes stark eingeschränkt, so ist der 2. Schritt nochmals stark eingeschränkt.

Die Formylierung $MM \longrightarrow N\text{-FAAP}$ ist bei Gesunden (24) wie bei Zirrhotikern erheblichen interindividuellen Schwankungen unterworfen. Vom Ausmass der Stoffwechseleinschränkung scheint sie nur so weit betroffen, dass sich bei den Wenigst-Metabolisierern eine überproportionale Einschränkung der Formylierung findet (s. Abb. 22). Ansonsten ist die Gesamtmenge an N-FAAP im gleichen Masse wie die Gesamtmetabolisierung herabgesetzt. Im Durchschnitt werden 28 % aller erfassten Metabolite als N-FAAP ausgeschieden (s. Ergebnisteil). Es hat also mit Abstand den zweitgrössten Anteil an der Gesamtmenge der Metaboliten. Bemerkenswert ist, dass sich ein ähnliches Verhalten beim Gesunden findet (24).

Die Acetylierung



zeigt ebenfalls grosse interindividuelle Unterschiede

Eine Abhängigkeit des Grades der Acetylierung vom Ausmass der Gesamtmetabolisierung scheint innerhalb des Zirrhotikerkollektivs nicht zu bestehen. Gegenüber Gesunden, die meist über 50 % (Gorumaru et al., 24) ihrer Metaboliten als AcAAP ausscheiden, besteht beim Zirrhotiker tendenziell eine Verminderung: er scheidet durchschnittlich 38 % als AcAAP aus. N-FAAP und AcAAP allein machen durchschnittlich schon 66 % der erfassten Metabolite aus. Diese Zahl unterstreicht die Wichtigkeit einer selektiven Erfassung von N-FAAP und AcAAP zur Beurteilung des AP-Metabolismus.

IV. C. Diskussion der Plasmamessungen

Als Mass für die Auseinandersetzung eines Organismus mit einem Pharmakon wird oft die Plasmahalbwertszeit, die Eliminationskonstante oder die Clearance des Pharmakons benutzt (20). Letztere ist vorzuziehen (55), da die Clearance auch das Verteilungsvolumen des Pharmakons berücksichtigt (7). Die AP-Clearance betrug bei Hildebrandt et al. (40) im Durchschnitt 251 ml/min, bei Vesell et al. (70) 268 ml/min.

Für AP wurden bei Gesunden folgende Halbwertszeiten beschrieben:

Hildebrandt et al. (40)	:	2,0 h, Dosis : 600 mg,
Roots et al. (61)	:	3,7 h, Dosis : 1200 mg,
Bircher et al. (6)	:	2,5 h, Dosis : 9 mg/kg,
Scherrer et al. (65)	:	2,3 h, Dosis : 9 mg/kg,
Vesell et al. (70)	:	2,7 h, Dosis : 9 mg/kg,
Windorfer et al. (80)	:	2,8 h bei Erwachsenen, 2,6 h bei Kindern, Dosis: 8-17 mg/kg

Diese Ergebnisse wurden mit spezifischen GC-Methoden erzielt. Die in der Literatur angegebenen längeren Halbwertszeiten von ca. 6 h (2, 10, 34, 75, 76) wurden mit spektrophotometrischen Methoden z. B. nach Brodie et al. (10) erzielt. Mit AP interferiert hier aber z. B. MM, dessen Plasmakonzentration im Messzeitraum ja ansteigt, während AP abfällt. Die photometrische Summierung beider Werte ergibt so einen scheinbar langsameren Abfall von AP und damit eine längere Halbwertszeit.

Die längere Halbwertszeit bei Roots et al. (61) von 3,7 h bei der hohen Dosis von 1200 mg deutet auf eine Sättigungskinetik hin. In den üblichen experimentellen Dosen von ca. 9 mg/kg Körpergewicht ist eine solche Sättigung nicht zu erwarten (2).

Das eigene Zirrhotikerkollektiv hat eine mittlere Halbwertszeit von 6,9 h (von 4,1 h bis 14,5 h) (s. Tab. B). Das sind 2- bis 3-fach längere Werte als bei den Normalkollektiven. Die Clearance zeigt ein Mittel von 94 ml/min (von 33 ml/min bis 168 ml/min). Der Unterschied zum Gesunden ist auch hier eindeutig.

Auch die verfügbare Literatur über Zirrhotiker zeigt im Vergleich zum Gesunden eine deutliche Verlängerung der AP - Halbwertszeit bzw. ein Absinken der Plasmaclearance (55). Bircher et al. (6) ermittelte bei 20 Zirrhotikern eine Halbwertszeit von 6,8 h ($\pm 42\%$), bei 23 Gesunden dagegen eine Halbwertszeit von 2,5 h ($\pm 20\%$).

Beim eigenen wie beim Zirrhotikerkollektiv von Bircher et al. (6) fällt eine besonders hohe Streuung der Halbwertszeiten auf. Ausser physiologischen interindividuellen Schwankungen, wie sie beim Gesunden auch zu finden sind, reflektiert dies wohl den unterschiedlichen pathologischen Funktionszustand der einzelnen zirrhotischen Leber.

Wichtig ist aber, dass die Mitglieder des eigenen Kollektivs mit ihren kürzesten Halbwertszeiten (4,1 h) immer noch oberhalb des 2 - S. D. - Bereiches für Gesunde liegen. Im Gegensatz dazu fand Noordhoek et al. (55) auch bei Leberzirrhotikern vereinzelt normale AP - Clearancewerte. Die früher vertretene These, die AP - Halbwertszeit zeige bei Zirrhotikern und Gesunden gar keinen Unterschied (10, 76), kann nicht mehr aufrecht erhalten werden. Diese Ergebnisse sind wohl entweder methodisch bedingt (z. B. spektrophotometrische Methode nach Brodie et al. (10), s. o.) oder sie beruhen auf Fehler in der Auswahl des Kollektivs.

Erstmals konnten in dieser Arbeit Plasmakonzentrationsverläufe der Metaboliten von AP bei Leberzirrhotikern gemessen werden.

Abb. 28 zeigt die Mittelwerte der AP - und Metabolitenkonzentrationen der 13 Leberzirrhotiker.

Den individuell unterschiedlichen Ergebnissen konnten folgende Aussagen entnommen werden:

Das Demethylierungsprodukt von AP, nämlich MM, kann nicht mit der gleichen Geschwindigkeit aus dem Plasma eliminiert werden wie AP oder es hat ein kleineres Verteilungsvolumen. Es kumuliert daher in den ersten 10 h z. T. erheblich und erreicht Plasmakonzentrationen von bis zu 85 nMol/ml, liegt also teilweise über den jeweiligen maximalen Konzentrationen von AP. Die Summe der Abbauschritte von MM zu N-FAAP und AAP verläuft hier also langsamer als der Schritt AP zu MM.

Tierexperimentelle Untersuchungen in vitro und in vivo (29, 63) zeigten, dass der zweite Demethylierungsschritt der langsamere, geschwindigkeitsbestimmende ist. Dies braucht jedoch auf den Menschen nicht zuzutreffen. Die relativ langsame Metabolisierung von MM könnte auf einer kompetitiven Hemmung durch Amidopyrin beruhen (63, 55). Auch AAP war im Plasma nachweisbar (s. Abb. 12 - 16 u. 28).

Die anteilmässig grössten Metabolite, N-FAAP und AcAAP, konnten recht konstant im Plasma nachgewiesen werden (s. Abb. 12 - 16 u. 28).

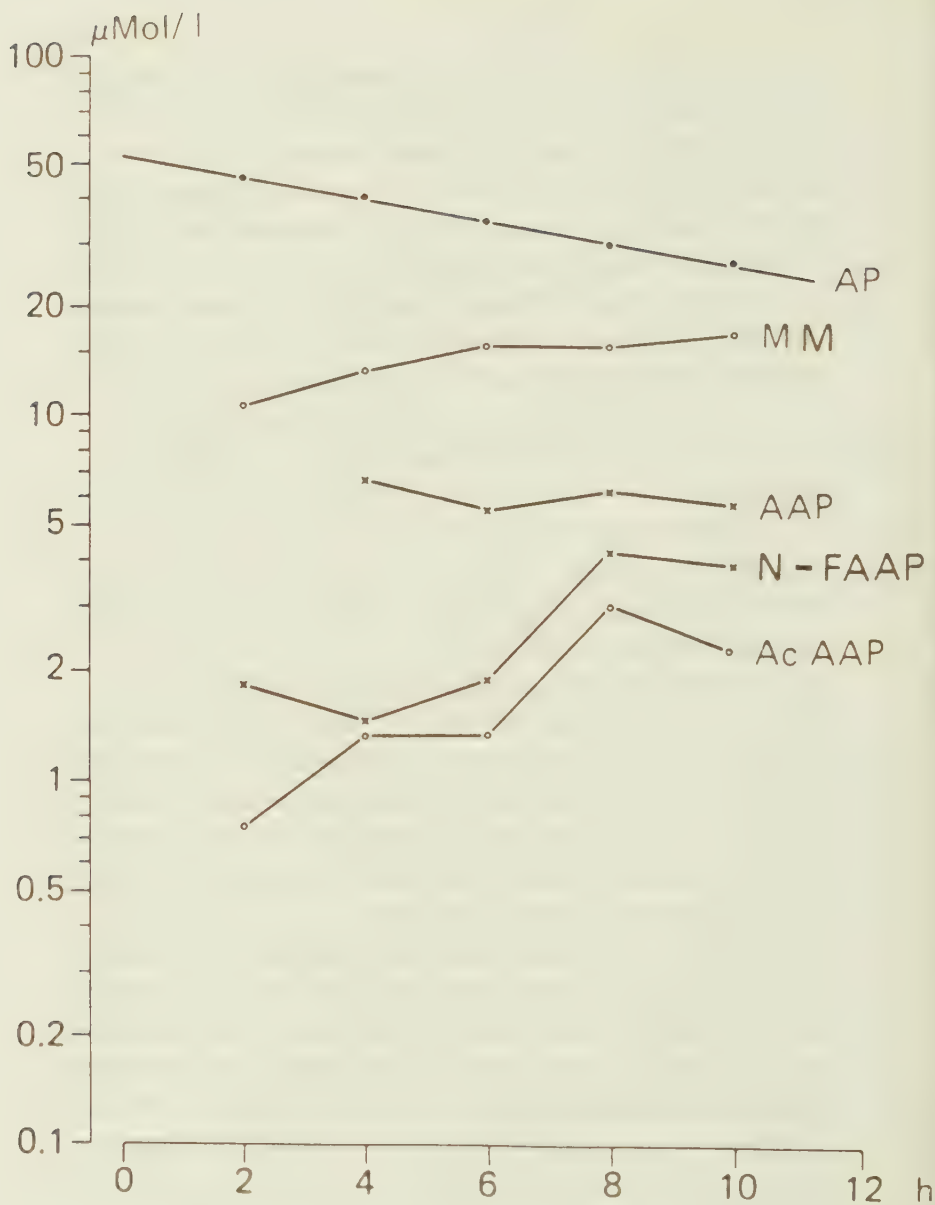


Abb. 28: Eliminierung von Amidopyrin und Bildung von Metaboliten
im Plasma von Patienten mit Leberzirrhose (Durchschnitts-
werte von 13 Zirrhotikern).

Auch sie kumulieren z. T., was für eine relativ langsame Eliminierung spricht.

Die Plasmakonzentrationen dieser Metabolite betragen aber im Durchschnitt nur 1/10 der AP - und MM - Konzentrationen.

IV. D. Einfluss von Spironolacton auf die Amidopyrin - Kinetik

Durch Vorbehandlung mit Spironolacton kann man im Tierversuch mehrere durch Cytochrom P-450 gesteuerte Reaktionen stimulieren (64). Eine induzierende Wirkung ist auch beim Menschen bekannt. So senkt Spironolacton die Halbwertszeit von Antipyrin beim Gesunden (42).

Für den AP - Stoffwechsel beim Tier ist eine induzierende Wirkung im AP - Atemtest (64) beschrieben worden.

Bei Leberzirrhotikern mit und ohne Spironolacton fanden Carlisle et al. (11) für den AP - Atemtest keinen Unterschied.

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte eine induzierende Wirkung von Spironolacton beim Leberzirrhotiker nicht nachgewiesen werden. Die Spironolacton - Patienten hatten vielmehr eine tendentiell schlechtere Metabolisierung. Hierbei ist zu beachten, dass eine Spironolacton-Medikation nur bei den Patienten bestand, bei denen es therapeutisch für nötig gehalten wurde. Es lag für das Spironolacton - Kollektiv also eine spezielle Auswahl vor mit Patienten, deren Leberfunktion klinisch in einem schlechteren Zustand war. Eine Vergleichbarkeit der Kollektive mit und ohne Spironolacton war bei der Versuchsplanung nicht angestrebt worden.

IV. E. Amidopyrin - Stoffwechsel und Leberzirrhose

Die Untersuchung des Amidopyrinstoffwechsels beim Leberzirrhotiker ist einzuordnen als ein Teilgebiet der Untersuchung des Leberstoffwechsels aus pharmakologischer Sicht.

Sowohl der Kliniker wie der Pharmakologe sind hier angesprochen:

- (1) Für den Pharmakologen sind die klassischen klinischen Leber-Laborwerte nur von geringerem Wert, um die Kapazität der Arzneimittel - abbauenden Enzymsysteme für ein bestimmtes Pharmakon bei einem Individuum abzuschätzen. Diese Tatsache macht die Erforschung von potentiellen Parametern des Arzneimittelstoffwechsels notwendig (39, 41, 61, 64).
- (2) Der Kliniker andererseits fordert von der Pharmakologie verlässliche Tests zur quantitativen Bestimmung des Schweregrades einer Leberstörung (47). Bisher kann er hier nur auf den BSP - Test und die Bestimmung der Galaktose-Eliminationskapazität zurückgreifen (6, 47). Diese beiden Tests reflektieren aber nur Teilleistungen der Leber und vermögen den biochemischen Funktionszustand des endoplasmatischen Retikulums der Leberzelle nicht zu erfassen.

Der Stoffwechsel von Pharmaka sollte also nicht allein in Hinblick auf die Frage seiner Beeinflussbarkeit durch Leberstörungen untersucht werden. Vielmehr sollte auch gefragt werden: Kann man aus dem Stoffwechsel von Pharmaka auf die Leberfunktion schliessen ?

Die Diskriminierung zwischen normaler und pathologischer Leberfunktion konnte mit einigem Erfolg durch Untersuchung der Clearance von Antipyrin betrieben werden (3, 8). Immer mehr jedoch wurde Amidopyrin Gegenstand des Interesses.

Es sind zwar auch für andere Pharmaka verminderte Clearance-Werte z. B. bei Leberzirrhose gefunden worden. So für: Paracetamol, Pethidin, Diazepam und eben Antipyrin (3, 8, 47). Auch fanden sich Korrelationen zwischen Quick - Wert und Serum - Albumin einerseits und Phenylbutazon-, Amylobarbital, Antipyrin und Propranolol-Stoffwechsel andererseits (47). In der Diskriminierung zwischen pathologischer und normaler Leberfunktion

hat sich aber besonders die AP - Stoffwechselformel bewährt (6, 11, 32, 34, 36, 37, 47, 70, 71, 76, 77).

Die Bestimmungen erfolgten zumeist mit dem 1974 von Hepner und Vesell eingeführten Amidopyrin - Atemtest (ABT) (72) : an den exozyklischen Methylgruppen ^{14}C - markiertes AP wird oral gegeben. Die oxydativ abgespaltenen Methylgruppen werden über Formaldehyd zu $^{14}\text{CO}_2$ abgebaut und über die Lungen abgeatmet. In der Ausatemluft erfolgt die Messung von $^{14}\text{CO}_2$ über die Zeit. Der AP - Atemtest korreliert im übrigen mit der AP - Clearance (32).

So zeigte sich, dass der AP - Atemtest in 94 % aller hepatozellulären Erkrankungen pathologisch ausfällt (71). In der Diagnostik des Leber-Karzinoms war der AP - Atemtest sowohl der Laborchemie wie dem Leber-Scan überlegen. Bei Leberkarzinomen mit normaler Laborchemie war der Leber-Scan nur in 38 %, der AP - Atemtest aber in 68 % positiv (36). Der AP - Atemtest differenziert eine Hyperbilirubinämie; normale Werte bei Cholestase, pathologische bei den hepatozellulären Störungen wie Hepatitis, Leberzirrhose oder Leberkarzinom (34, 37). Eine Differenzierung der letzten drei voneinander ist mit dieser Methode allerdings nicht möglich (34).

Es sind verschiedene Korrelationen zwischen Lebertesten und AP - Stoffwechsel beschrieben worden:

Korrelationen von AP - Atemtest und BSP (34), zwischen AP - Eliminationskonstante und Galaktose - Eliminationskapazität (6), zwischen AP - Clearance und Serum - Albumin (32) sowie Quick - Wert (11, 47, 77), wie auch zwischen AP - Halbwertszeit einerseits und γ - Globulinen sowie BSP andererseits (76). In der eigenen Arbeit fanden sich die höchsten Korrelationen zwischen AP - Clearance und der γ - Globulinerhöhung ($r = -0,58$, $p < 0,001$), sowie Quick - Wert ($r = -0,57$, $p < 0,05$) und der PTT ($r = -0,58$, $p < 0,05$). Die gesamte Metabolitenausscheidung in 24 h korreliert ebenfalls mit den γ - Globulinen ($r = -0,68$, $p < 0,01$), sowie mit Gesamt - Bilirubin

($r = -0,78$ $p < 0,005$), nicht aber mit dem Quick - Wert oder der PTT. Eine Korrelation mit Serum - Albumin fand sich mit keinem Parameter.

Tab. E hebt hervor: Viel Metabolisierer innerhalb des Zirrhotikerkollektivs unterscheiden sich von Wenig - Metabolisierern durch Quick - Wert und PTT, also Syntheseleistung, wie auch durch Bilirubin, gesamt und direkt, also Exkretionsleistung, sowie durch GOT und GPT, also Zellnekrose bzw. Zellentzündung.

Auch die eigenen Ergebnisse zeigen die Überlegenheit der AP - Stoffwechselmessung über die klinischen Labordaten (s. Tab. D): Während die AP - Clearance bei allen Patienten deutlich pathologisch ausfiel, fand sich eine Albuminverminderung nur bei 5 von 14 Patienten, eine Cholinesteraseverminderung nur bei 1/3 der Patienten. Der Quick - Wert war bei 5 Patienten normal, die γ -GT immerhin noch bei 3 Patienten. Die diagnostische Bedeutung einer γ -GT - Erhöhung wird in einigen Arbeiten besonders hervorgehoben (21, 52).

Während die hepatozelluläre Funktion also noch ausreicht, um o. g. Werte im Normbereich zu halten, zeigt der AP - Stoffwechsel schon eindeutige Einschränkungen.

Die Gesamtausscheidung an Metaboliten korreliert dabei mit der AP - Clearance in 24 h mehr ($r = 0,69$, s. Abb. 24) als in 48 h ($r = 0,61$).

Die AP - Clearance korreliert am höchsten mit der Ausscheidung von AAP + AcAAP ($r = 0,77$), also jenen Produkten der 2. Demethylierung, die mit der Methode nach Bratton und Marshall erfassbar sind. Eine Korrelation von AP - Halbwertszeit und AAP - Ausscheidung beschreiben auch Hepner et al. (35).

Der wichtigste Einwand gegen den Einsatz von AP als Testsubstanz beim Menschen ist das Auftreten von allergischen Agranulozytose, was auch zur Zurückhaltung in der therapeutischen Nutzung geführt hat (31, 33, 45, 57). Der Grund für die spätere Zurücknahme der Zulassung durch das Bundesgesundheitsamt war jedoch die während des Herstellungsprozesses auftretende geringfügige Nitrosaminbildung.

Kantero et al. (45) geben die Häufigkeit an Agranulozytosen mit 1 : 100.000 an, andere mit 1 : 40.000 (33, 57). Diese gravierende Nebenwirkung wurde allerdings nie nach einmaliger Gabe des Präparates beobachtet (11, 33, 34). Die sonstigen Nebenwirkungen, wie allergische Hautreaktionen, entsprechen in Ausmass und Häufigkeit anderen therapeutisch genutzten Analgetika (15, 30). Der diagnostische Einsatz von AP in einmaliger Dosis scheint nach Abwägung dieser Risiken gerechtfertigt (33, 34).

Amidopyrin eignet sich als Testsubstanz bei Leberzirrhose in besonderer Weise:

Die AP - Kinetik ist Flow - unabhängig und ist lediglich von der Aufnahme in die Leberzelle und der Verstoffwechslung am endoplasmatischen Retikulum limitiert (7, 72, 76).

Weder eine komplizierende Niereninsuffizienz verlangsamt die Clearance (48, 74) - eher wird sie gesteigert (65) -, noch tritt eine Sättigungskinetik in den verwendeten Dosen von 9 - 10 mg/kg Körpergewicht auf (2).

Ebenso wurde die enterale Resorption von AP bei Leberzirrhose als unverändert beschrieben (76). Wegen der ohnehin niedrigen Plasmaeiweissbindung (5, 71) fällt eine Albuminverminderung bei Zirrhose nicht ins Gewicht (8, 47). Hepner et al. (37) geben an, dass AP auch keinen enterohepatischen Kreislauf habe. Somit wäre der AP - Stoffwechsel unabhängig von Exkretionsstörungen der Leber.

Ein verminderter AP - Stoffwechsel entspricht also weitgehend einer verminderten oxydativen Demethylierung:

Der Gehalt der zirrhotischen Leber an Cytochrom P-450 ist auch bis zu 50 % vermindert gefunden worden (18, 46, 66). Vorübergehend kann durch das Anwachsen des Lebergewichts dieser Wert ausgeglichen sein (66).

Dies mag ein Grund für fast - normale AP - Werte bei einigen Zirrhotikern sein.

Die Messung des Stoffwechsels von Amidopyrin beim Menschen ermöglicht in zunehmendem Masse die Aufdeckung und Kontrolle von Leberfunktions-

störungen, insbesondere der Leberzirrhose. Hierzu wurden bisher hauptsächlich der AP - Atemtest und die Messung der AP - Halbwertszeit eingesetzt. Eine differenzierte Betrachtung des AP - Stoffwechsels war hierbei nicht möglich.

Die vorliegende Arbeit beschreibt eine Methode zur gleichzeitigen differenzierten Erfassung von AP und seinen Metaboliten MM, AAP, AcAAP und N-FAAP. Der Stoffwechsel von AP und seinen Metaboliten konnte bei 13 Leberzirrhotikern im Plasma und Urin verfolgt werden. Besonderes Gewicht wurde auf den " neuen " Metaboliten N-FAAP gelegt, der sich als zweitgrösster Metabolit herausstellte.

Die gleichen Informationen konnten bisher nur mit der aufwendigen Technik der GC - MS erhalten werden (24, 25); anders als beim Atemtest kann hier ohne radioaktiv markierte Stoffe gearbeitet werden.

Die mit dieser Methode mögliche Erfassung von Plasma - Clearance, Gesamt - Metabolisierung und separater Bestimmung einzelner Metabolite bietet ein vielfältiges Instrumentarium zur weitergehenden Erforschung des Arzneimittelstoffwechsels am Beispiel des AP und seiner Bedeutung für die Diagnostik von Leberkrankheiten.

Schliesslich mag der beschriebene Weg zu einem besseren Verständnis des Arzneimittel - abbauenden Enzymsystems als einem wichtigen Teil der biochemischen Leistungen der Leber führen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Der Stoffwechsel von Amidopyrin wurde an einem Kollektiv von **15** stationär behandelten Frauen und Männern mit Leberzirrhose untersucht. Teilweise handelte es sich um kompensierte, teilweise um dekomensierte Zirrhosen.

10 mg/kg Körpergewicht Amidopyrin wurden am Morgen des Untersuchungstages oral gegeben und Plasmaproben in den darauf folgenden 10 h entnommen und der Urin fraktioniert 48 h lang gesammelt.

Mit einer neu entwickelten hochdruckflüssigkeitschromatographischen Methode konnte erstmals die Metabolisierung von Amidopyrin zu Monomethylaminoantipyrin (MM), Aminoantipyrin (AAP), Acetylaminoantipyrin (AcAAP) und Formylaminoantipyrin (N-FAAP) im Plasma und Urin von Leberzirrhotikern verfolgt werden. Die Trennung erfolgte mit einer Lichrosorb Diol 10 - Säule mittels eines 3 - Komponenten - Gradient - Systems (n-Hexan/Isopropanol/ Dichlormethan).

Amidopyrin (AP) wird am endoplasmatischen Retikulum der Leberzelle über Cytochrom P-450 zu MM demethyliert. MM wird entweder weiter zu AAP demethyliert oder zu N-FAAP oxydiert. AAP seinerseits wird zu AcAAP acetyliert.

Für AP wurde eine durchschnittliche Halbwertszeit von 6,9 h (4,1 h bis 14,5 h) und eine Plasma-Clearance von durchschnittlich 99 ml/min (33 ml/min bis 168 ml/min) gefunden. Der Stoffwechsel von Amidopyrin läuft bei Zirrhose-Patienten somit deutlich langsamer ab als es für Gesunde berichtet wurde.

Die Metabolite wurden im Durchschnitt langsamer als AP aus dem Plasma eliminiert. Die höchsten Konzentrationen im Plasma wurden für MM gefunden (bis 85 nMol/ml).

Im Urin wurden in 24 h 9,6 % der Dosis und in 48 h 21 % der Dosis an Metaboliten wiedergefunden. Den höchsten Anteil an der Metabolisierung

hatten AcAAP mit 38 % und N-FAAP mit 28 %, gefolgt von MM mit 22 % und AAP mit 11 %. Das Kollektiv zeigte eine grosse Schwankungsbreite: von 0,7 % der Dosis bis 20,4 % der Dosis in 24 h. Die Gruppe der Wenig-Metabolisierer hatte eine entsprechend höhere Ausscheidung an unverändertem AP - bis 3,1 % der Dosis in 24 h, gegenüber einem Durchschnitt von 1,2 % der Dosis.

Im Vergleich zu Gesunden fanden sich geringere Mengen Metabolite im Urin. Die Einschränkung der Metabolisierung betraf die 1. Demethylierung von AP zu MM, aber stärker noch die 2. Demethylierung von MM zu AAP. Der Anteil von AcAAP und N-FAAP an der gesamten Metabolisierung entsprach dagegen etwa Gesunden.

Patienten mit relativ hoher Amidopyrin - Clearance zeigten deutlich bessere Quick-, PTT-, γ -Globulin-, Bilirubin- und GOT- wie GPT - Werte als die Patienten mit niedriger AP - Clearance.

Auch bei Zirrhose - Patienten mit normalen Leber-Laborwerten war die AP - Clearance deutlich eingeschränkt. Die Clearance korrelierte zur 24 h-Gesamtmetabolisierung.

Die verwendete Methode bietet sich als Alternative zum ^{14}C - AP - Atemtest an. Sie ist für den Patienten wenig belastend, schnell und sicher durchzuführen und bietet durch differenzierte Erfassung der wichtigsten bekannten Metabolite, insbesondere auch von N-FAAP, ein hohes Mass an Information über den Stoffwechsel von AP bei Leberzirrhose.

Die Rolle von AP als Testsubstanz des Arzneimittelstoffwechsels erfährt durch diese Methode eine neue Erweiterung und Differenzierung.

VI. LITERATUR - VERZEICHNIS

- (1) ABDINE, H.,
ABDEL-HADY ELSAYED, M.,
CHAAABAN, I.,
ABDEL-HAMID, M. E. Spectrophotometric determination of aminopyrin and antipyrin by charge-transfer complex formation. Analyst, 103, 1227-1232 (1978)
- (2) ACKERMANN, E.,
RENGER, F., DÖKERT, B.,
WALTHER, M. Aminophenazonhalbwegszeit bei Patienten mit chronischen Leberparenchymschäden. Zschr. inn. Med. 19, 849-853 (1972)
- (3) ANDREASEN, P. B.,
GREISEN, G. Phenazone metabolism in patients with liver disease. Europ. J. clin. Invest. 6, 21-26 (1976)
- (4) ARZNEIMITTELBRIEF,
DER Änderungen des Arzneimittelabbaues in der Leber. In: Der Arzneimittelbrief, 13-15, 3 (1972)
Herausg.: Herxheimer, H., Berlin,
Schwab, M., Berlin,
Spier, H.-W., Berlin
- (5) BANERJEE, N. C.,
MILLER, G. E., STOWE, C.M. Excretion of aminopyrine and its metabolites into cows' milk. Tox. app. Pharmac. 10, 604-612 (1967)
- (6) BIRCHER, J.,
KÜPFER, A., GIKALOV, I.,
PREISIG, R. Aminopyrine demethylation measured by breath analysis in cirrhosis. Clin. Pharmac. Therap. 20, 484-492 (1976)
- (7) BLASCHKE, T. F. Protein binding and kinetics of drugs in liver disease. Clin. Pharmacokinetics 2, 32-44 (1977)
- (8) BRANCH, R. A.
JAMES, J. A., READ, A. E. The clearance of antipyrine and indocyanine green in normal subjects and in patients with chronic liver disease. Clin. Pharmac. Therap. 20, 81-89 (1976)
- (9) BRODIE, B. B.,
AXELROD, J. The fate of aminopyrine (pyramidon) in man and methods for the estimation of aminopyrine and its metabolites in biological material. J. Pharm. Exp. Therap. 99, 171-184 (1950)

- (10) BRODIE, B. B.,
BURNS, J. J., WEINER, M.
Metabolism of drugs in subjects
with Laennec's Cirrhosis.
Med. exp. 1, 290-292 (1959)
- (11) CARLISLE, R.,
GALAMBOS, J. T., WARREN, W. D.
The relationship between conventional
liver tests, quantitative function tests,
and histopathology in cirrhosis.
Digest, Dis. Sci. 24, 358-362 (1979)
- (12) CASPARY, W. F.,
SCHÄFFER, J.
Gesteigerte Demethylierung von
Aminophenazon unter antikonvulsiver
Langzeitbehandlung.
Klin. Wschr. 56, 677-679 (1978)
- (13) DAVIES, D. S.,
THORGEIRSSON, S. S.,
BRECKENRIDGE, A., ORME, M.
Interindividual differences in rates
of drug oxidation in man.
Drug Metab. Dispos. 1, 411-417 (1973)
- (14) DOKUMENTE AUS
HOECHSTER ARCHIVEN
Dr. Friedrich Stolz, der Erfinder des
Pyramidons.
Beiträge zur Geschichte der Chemie
12 (1965), 7-13.
Herausg.: Farbwerke Hoechst AG
- (15) EHRHARDT, G.,
RUSCHIG, H.
Analgetica.
Aus: Arzneimittel, Entwicklung,
Wirkung, Darstellung
1, 386-396 (1968)
Verlag Chemie GmbH Frankfurt
- (16) ESTABROOK, R. W.,
FRANKLIN, M. R., COHEN, B.,
SHIGAMATZU, A.,
HILDEBRANDT, A. G.
Influence of hepatic microsomal
mixed function oxidation reactions
on cellular metabolic control.
Metabolism 20, 187-199 (1971)
- (17) ESTABROOK, R. W.,
WERRINGLOER, J.
The microsomal enzyme system res-
ponsible for the oxidative metabolism
of many drugs.
In: The Induction of Drug Metabolism
187-199
Herausg.: R. W. Estabrook,
E. Lindenlaub
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart -
New York, 1979
- (18) GAUDETTE, L. E.,
BRODIE, B. B.
Relationship between the lipid solubility
of drugs and their oxidation by liver
microsomes.
Biochem. Pharmac. 2, 89-86 (1959)

- (19) GILLETTE, J. R.,
JOLLOW, D. J.

Drug metabolism in liver.
In: The Liver, Normal and Abnormal
Function, 165-201
Herausg. : F. Becker,
New York, 1974
- (20) GLADTKE, E.,
HATTINGBERG, H. M. von

Pharmakokinetik, 11-19
Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg -
New York, 1973
- (21) GOLDBERG, D. M.,
MARTIN, J. V.

Role of γ -glutamyl transpeptidase
activity in the diagnosis of hepa-
tobiliary diseases.
Digestion 12, 232-246 (1975)
- (22) GOLDSTEIN, A.,
ARONOW, L., KALMAN, S. M.

Chemical pathways of drug metabolism.
In: Principles of Drug Action, 2. Aufl.
242-283 (1974), J. Wiley, New York
- (23) GOODMAN, L. S.,
GILMAN, A.

Biotransformation of drugs.
In: The Pharmacological Basis of
Therapeutics 5, 13-46 (1978)
- (24) GORUMARU, T.,
NODA, A., MATSUYAMA, K.,
IGUCHI, S.

Metabolism and excretion of amino-
pyrine in man.
Chem. Pharm. Bull. 24, 1376-1383 (1976)
- (25) GORUMARU, T.,
MATSUYAMA, K., NODA, A.,
IGUCHI, S.

The measurement of plasma concen-
tration of aminopyrine and its meta-
bolites in man.
Chem. Pharm. Bull. 26, 33-37 (1978)
- (26) GRADNIK, B.,
FLEISCHMANN, L.

Quantitative Bestimmung von Amino-
pyrin-Metaboliten und Aminopyrin nach
dünnschichtchromatographischer Trennung.
Pharm. Acta. Helv. 48, 144-150 (1973)
- (27) GRADNIK, B.,
FLEISCHMANN, L.

Quantitative Harnausscheidung verschiede-
ner Aminopyrin-Stoffwechselprodukte
beim Menschen.
Pharm. Acta Helv. 48, 181-191 (1973)
- (28) GRAM, T. E.,
WILSON, J. T., FOUTS, J. R.

Some characteristics of hepatic micro-
somal systems which metabolize amino-
pyrine in the rat and rabbit.
J. Pharmac. Exp. Therap. 159,
172-182 (1968)

- (29) GREIM, H.,
REMMER, H. Störungen der Entgiftung.
In: Klinische Hepatologie, 3,146-3,150
Herausg.: H.A.Kühn
Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg -
New York, 1979
- (30) HABERMANN, E. Arzneimittel-Allergie.
In: Pharmakotherapie, Klinische
Pharmakologie, 313-324
Hrsg.: G. Fülgraff, D. Palm,
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart -
New York, 1977
- (31) HARTL, W. Agranulozytose Schultze.
Med. Welt 22, 967-969 (1971)
- (32) HEPNER, G. W.,
VESELL, E. S. Assessment of aminopyrine metabolism
in man by breath analysis after oral
administration of 14-C-aminopyrine.
New Engl. J. Med. 291, 1384-1388 (1974)
- (33) HEPNER, G. W. Use of aminopyrine in breath test.
Gastro enterol 69, 570 (1975)
- (34) HEPNER, G. W.,
VESELL, E. S. Quantitative assessment of hepatic
function by breath analysis after oral
administration of (14-C) aminopyrine.
Ann. Int. Med. 83, 632-638 (1975)
- (35) HEPNER, G. W.,
VESELL, E. S. Aminopyrine disposition: studies on
breath, saliva, and urine of normal
subjects and patients with liver disease.
Clin. Pharm. Therap. 20, 654-660 (1976)
- (36) HEPNER, G. W.,
UHLIN, S. R., LIPTON, A.,
HARVEY, H. A.,
ROHRER, G. V. Abnormal aminopyrine metabolism in
patients with hepatic neoplasm. Detection
by breath test.
JAMA 236, 1587-1589 (1976)
- (37) HEPNER, G. W.,
VESELL, E. S. Aminopyrine metabolism in the presence
of hyperbilirubinemia due to cholestasis
or hepatocellular disease.
Clin. Pharm. Therap. 21, 620-626 (1977)
- (38) HILDEBRANDT, A. G. The binding of metyrapone to cytochrome
P-450 and its inhibitory action on micro-
somal hepatic mixed-function oxidase
reactions.
In: Biochem. Soc. Sympos. No 34
Hrsg.: G.S. Boyd, R.M.S. Smellie
London - New York Acad. Press, 79-102
(1972)

- (39) HILDEBRANDT, A. G.,
ROOTS, I., SPECK, M.
Estimation of drug metabolising enzyme activity in man by various " in vivo " parameters.
Gazetta Inglese 2, 43-47 (1975)
- (40) HILDEBRANDT, A. G.,
ROOTS, I., SPECK, M.,
SAALFRANK, K.,
KEWITZ, H.
Evaluation of in vivo parameters of drug metabolizing enzyme activity in man after oral administration of clemastine, phenobarbital or placebo
Europ. J. clin. Pharmacol. 8, 327-336 (1975)
- (41) HILDEBRANDT, A. G.,
ROOTS, I.,
HEINEMEYER, G.,
NIGAM, S., HELGE, H.
Aminopyrine as one of the parameters to measure in vivo drug metabolism activity in man and animal.
In: The Induction of Drug Metabolism, 615-629
Hrsg.: R. W. Estabrook, E. Lindenlaub
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1979
- (42) HOFFMAN, D.H.,
SHOEMAN, D. W.,
PENTIKÄINEN, P.,
AZARNOFF, D. L.
The effect of spironolactone on anti-pyrene metabolism in man.
Pharmacology 10, 338-344 (1973)
- (43) IGUCHI, S.,
GORUMARU, T., NODA, A.,
A new metabolite of aminopyrine (aminophenazone) in man, 4-formyl-aminoantipyrine,
Chem. Pharm. Bull. 23, 932-934 (1975)
- (44) IGUCHI, S.,
GORUMARU, T., NODA, A.,
TSUBONE, N.
Excretion of 4-formylaminoantipyrine as a new metabolite of aminopyrine in experimental animals.
Chem. Pharm. Bull. 23, 1889-1890 (1975)
- (45) KANTERO, I.,
MUSTALA, O.O., PALVA, I.P.
Drug induced agranulocytosis, with special reference to aminophenazone.
Acta med. scand. 192, 327-330 (1972)
- (46) KATO, R.
Drug metabolism under pathological and abnormal physiological states in animals and man.
Xenobiotica 7, 25-92 (1977)
- (47) KLOTZ, U.
Influence of liver disease on the elimination of drugs.
Europ. J. Drug Metab. Pharmacokin. 3, 129-140 (1976)

- (48) LEBER, H. W.,
HARDERS, A., SCHÜTTERLE, G. Untersuchungen zum Einfluss der
Urämie auf die Metabolisierung von
Phenylbutazon und Aminophenazon
beim Menschen.
Klin. Wschr. 50, 1092-1096 (1972)
- (49) LEE, V. H.-L. The role of liver disease in modifying
drug response.
J. Americ. Pharm. Ass. 15, 632-634 (1975)
- (50) LIEHR, H.,
KASPER, H. Hepatologie, Geschichte und Ausblick.
In: Leberkrankheiten, 1-5 (1975)
Aesopus Verlag, Milano - München
- (51) MASON, H. S.,
ONOPRYENK, I., BUHLEF, D. Hydroxylation: the activation of oxygen
by peroxidase.
Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 24,
225-226 (1957)
- (52) MAYR, K. Die γ -Glutamyltranspeptidase in der
klinischen Diagnose.
Wien. klin. Wschr. 6, 83-87 (1973)
- (53) MÖRL, M.,
KÜNTZEL, W. Laparoskopie bei alkoholinduzierten
Leberschäden.
Dtsch. Ärztebl. 46, 2927-2932 (1976)
- (54) NODA, A.,
GORUMARU, T., TSUBONE, N.,
MATSUYAMA, K., IGUCHI, S. In vivo formation of 4-formylamino-
antipyrine as a new metabolite of
aminopyrine. I
Chem. Pharm. Bull. 24, 1502-1505 (1976)
- (55) NOORDHOEK, J.,
DEES, J.,
SAVENIJE-CHAPEL, E. M.,
WILSON, J. H. P. Output of $^{14}\text{CO}_2$ in breath after oral
administration of (^{14}C -methyl) amino-
pyrine in hepatitis, cirrhosis and hepatic
bilharziasis: its relationship to amino-
pyrine pharmacokinetics.
Europ. J. clin. Pharmacol. 13, 223-229
(1978)
- (56) O'MALLEY, K.,
CROOKS, J., DUKE, E.,
STEVENSON, I. H. Effect of age and sex on human drug
metabolism.
Brit. Med. J. 3, 607-609 (1971)
- (57) PALVA, I. P.,
MUSTALA, O. O. Drug-induced agranulocytosis, with
special reference to aminophenazone.
Acta med. scand. 187, 109-115 (1970)
- (58) POLAND, A. P.,
NEBERT, D. W. A sensitive radiometric assay of amino-
pyrine N-demethylation.
J. Pharm. Exp. Therap. 185, 269-277 (1973)

- (59) REMMER, H.,
Die Entgiftung von Pharmaka,
Dtsch. Med. Wschr. 7, 289-296 (1966)
- (60) REMMER, H.,
Der Einfluss des Stoffwechsels von
Arzneimitteln auf ihre Wirkungsstärke
und Wirkungsdauer,
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)
23, 1150-1154 (1973)
- (61) ROOTS, I.,
SAALFRANK, K.,
HILDEBRANDT, A. G.,
Comparison of methods to study enzyme
induction in man,
In: Cytochromes P-450 and b₅, 485-501
Herausg.: D.Y. Cooper, O. Rosenthal,
R. Snyder, C. Witmer
Plenum Publishing Corp. New York 1975
- (62) ROOTS, I.,
ICK, A.-M., HOLBE, R.,
LEONHARDT, H., PALME, G.,
Einfluss von Phenobarbital auf die Leber-
funktion und den Arzneimittelstoffwechsel
bei Patienten mit alkoholischer Leber-
zirrhose,
Naunyn-Schmiedeberg's Archives of
Pharmacol. Suppl. 297, R 60 (1977)
- (63) ROOTS, I.,
NIGAM, S., GRAMATZKI, S.,
HEINEMEYER, G.,
HILDEBRANDT, A. G.,
Hybrid information provided by the 14-C-
aminopyrine breath test; studies with
14-C-monomethylaminoantipyrine in the
guinea pig.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.
313, 175-178 (1980)
- (64) ROOTS, I.,
LEY, B., SETIAWAN, L.,
HEINEMEYER, G.,
HILDEBRANDT, A. G.,
Spironolactone, Characterization of its
enzyme-inducing properties by in vivo
parameters,
In: Aldosterone Antagonists in Clinical
Medicine (G.M. Addison et al., Hrsg.)
165-176, Excerpta Medica, Amsterdam
1978
- (65) SCHERRER, S.,
HALDIMANN, B., KÜPFER, A.,
REUBI, F., BIRCHER, J.,
Hepatic metabolism of aminopyrine in
patients with chronic renal failure,
Clin. Sci. Mol. Med. 54, 133-140 (1978)
- (66) SCHOENE, B.,
FLEISCHMANN, R. A.,
REMMER, H.,
OLDERSHAUSEN, H. F. von
Determination of drug metabolizing
enzymes in needle biopsies of human
liver,
Europ. J. clin. Pharmacol. 4, 65-73 (1972)

- (67) SHIMADA, K.,
NAGASE, Y. Quantitative high-performance liquid chromatographic determinations of aminopyrine and its metabolites in man. *J. Chromatography* 181, 51-57 (1980)
- (68) SIOUFI, A.,
COLUSSI, D. Gaschromatographic determination of phenazone derivates in human plasma. *J. Chromatogr.* 146, 503-508 (1978)
- (69) SJÖQVIST, F.,
BAHR, C. V. Interindividual differences in drug oxydation. *Drug Metabol. Disp.* 1, 469-482 (1973)
- (70) VESELL, E. S.,
PASSANANTI, G. T.,
GLENWRIGHT, P. A.,
DVORCHIK, B. H. Studies on the disposition of antipyrine, aminopyrine, and phenacetin using plasma, saliva, and urine. *Clin. Pharmacol. Therap.* 18, 259-272 (1975)
- (71) VESELL, E. S. Disease as one of many variables affecting drug disposition and response: alterations of drug disposition in liver disease. *Drug Metab. Rev.* 8, 265-291 (1978)
- (72) VESELL, E. S. Test drugs for liver function. In: *Problems in liver disease*, 300-312 Hrsg.: Ch. S. Davidson Georg Thieme Publishers Stuttgart, 1979
- (73) VESTAL, R. E.,
NORRIS, A. H., TOBIN, J. D.,
COHEN, B. H., SHOCK, N. W.,
ANDRES, R. A. Antipyrine metabolism in man: influence of age, alcohol, caffeine, and smoking. *Clin. Pharmacol. Therap.* 18, 425-432 (1975)
- (74) WAGNER, K.,
BUDER, H.-W. Chronische Niereninsuffizienz und Resorption von Aminophenazon. *Z. Ges. Inn. Med. (Berichte)* 26, 296-298 (1971)
- (75) WAGNER, K.,
KOPPARTZ, K. Der Aminophenazonmetabolismus bei chronischer Rechtsherzinsuffizienz. *Z. Ges. Inn. Med. (Berichte)* 26, 298-300 (1971)

- (76) WAGNER, K.,
SCHNEIDER, G., LEUTKE, D.,
SCHIMMELPFENNIG, W.,
THEUER, D.,
HEINEMANN, L.
Zur Pharmakokinetik bei chronischen
Hepatopathien: Untersuchungen am
Modell des Aminophenazons.
Dtsch. Gesundh. w. 25, 1109-1114 (1970)
- (77) WILKINSON, G. R.,
SCHENKER, S.
Drug disposition and liver disease.
Drug Metab. Rev. 4, 139-175 (1975)
- (78) WILKINSON, G. R.,
SHAND, D. G.
A physiologic approach to hepatic drug
clearance.
Clin. Pharmacol. Therap. 18, 377-390
(1975)
- (79) WINDORFER, A.,
RÖTTGER, H. J.
Mikromethode zur quantitativen
Bestimmung von Sedativa und Anti-
pyretika (Aminophenazon, Diphenyl-
hydantoin, Paracetamol, Phenobarbital,
Primidon).
Arzneim. Forsch. (Drug. Res.) 24,
893-895 (1974)
- (80) WINDORFER, A.,
MÜLLER, G., STEHR, C.
Veränderungen des Aminophenazon-
metabolismus bei akuter Hepatitis im
Kindesalter.
Dtsch. med. Wschr. 102, 1460-1464
(1977)

LEBENS LAUF

Ich, Bernd-Wolfgang Raack, wurde am 02.01.1955 in Schwelm/Westfalen als einziges Kind des Mechanikers Wolfgang Raack und seiner Ehefrau Rosemarie, geb. Miersch geboren. In meiner Geburtsstadt besuchte ich von 1961 bis 1965 die Volksschule Potthofstrasse und von 1965 bis 1973 das Märkische Gymnasium der Stadt Schwelm, wo ich den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig belegte und 1973 das Abitur bestand.

Ich immatrikulierte mich im Oktober 1973 in den Fächern Hamannmedizin und Philosophie an der Philipps-Universität Marburg. Meine Studien konnte ich durch ein Stipendium der Studienstiftung des Deutschen Volkes finanzieren. Nachdem ich im März 1976 das Physikum und im März 1977 den ersten Teil der Ärztlichen Prüfung bestanden hatte, wechselte ich zur Freien Universität Berlin, wo ich im September 1979 den zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung bestand. Mein Praktisches Jahr absolvierte ich in den Fächern Innere Medizin, Chirurgie und Dermatologie. Im November 1980 bestand ich den dritten Teil der Ärztlichen Prüfung und erhielt die Approbation als Arzt.

Meine Promotionsarbeit habe ich begonnen im April 1978 bei Priv.-Doz. Dr. Ivar Roots am Institut für klinische Pharmakologie, Klinikum Steglitz.

Von März 1981 bis September 1982 arbeitete ich als Assistenzarzt an der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Helmstedt.

Seit September 1982 arbeite ich in der Kinder- und Jugendpsychiatrie des Landeskrankenhauses Königsutter.

Ich danke Herrn Priv. - Doz. Dr. Ivar Roots für die Überlassung des Themas sowie seine immer wohlmeinende und konstruktive Begleitung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A. G. Hildebrandt gilt mein besonderer Dank für seinen wissenschaftlichen Rat und seine produktive Diskussionsbereitschaft.

Den Herren Dr. S. Nigam und Dr. G. Heinemeyer danke ich für ihre Unterstützung im technischen und apparativen Bereich.

Die hilfreiche Zusammenarbeit mit Prof. Dr. G. Palme vom Behring - Krankenhaus, Berlin-Zehlendorf ermöglichte die Aufstellung des Patientenkollektivs.

Frau E. Berg, Frau G. Gruber und Frau G. Minarek danke ich für die Hilfen bei der Aufarbeitung der Analysen.

